

UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA SEDE QUITO

CARRERA: INGENIERÍA AMBIENTAL

Tesis previa a la obtención del título de: INGENIERA AMBIENTAL

TEMA:

ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD Y TOLERANCIA QUE PRESENTAN LAS ESPECIES FORESTALES INTRODUCIDAS CEPILLO ROJO (*Callistemon citrinus*) Y MOLLE (*Schinus areira*) Y LAS ESPECIES VEGETALES NATIVAS GUARANGO (*Mimosa quitensis*) Y CHILCA (*Baccharis latifolia*) EN SUELOS CONTAMINADOS CON PLOMO Y NÍQUEL EN EL PARQUE ZONAL PUERTAS DEL SOL, DISTRITO METROPOLITANO DE QUITO, 2014.

AUTORAS:

**ALMEIDA HUARACA MISHALLE ANDREA
LIMA REMACHE GABRIELA ALEXANDRA**

DIRECTOR:

CUARÁN SARZOSA FREDDY VICENTE

Quito, agosto del 2014

**DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD Y AUTORIZACIÓN DE USO
DEL TRABAJO DE TITULACIÓN**

Nosotras, autorizamos a la Universidad Politécnica Salesiana la publicación total o parcial de este trabajo de titulación y su reproducción sin fines de lucro.

Además, declaramos que los conceptos y análisis desarrollados y las conclusiones del presente trabajo son de exclusiva responsabilidad de las autoras.

Quito, agosto del 2014

Almeida Huaraca Mishelle Andrea
C.I. 1721977351

Lima Remache Gabriela Alexandra
C.I. 1720108396

DEDICATORIA

A Dios por darme fuerza y valentía para enfrentarme a todas las dificultades que se presentaron en mi vida.

A mi madre Bertha por ser el pilar en mi vida, que con su amor infinito, comprensión, sacrificio y apoyo incondicional me ayudo a cumplir este sueño.

A mi padre, mi hermano y a mi familia, a los que creyeron en mí y me apoyaron.

A mi amigo Dr. Manuel Araque por creer en mí siempre, impulsarme a alcanzar mis sueños y apoyarme en el transcurso de mi carrera.

Y a mis ángeles que se presentaron en el camino, mis amigos en especial a Anabel, Cynthia, Carolina, Evelyn, Jessica y Patricia por brindarme su amistad incondicional durante todos estos años a pesar del tiempo y la distancia las llevo siempre en el corazón.

Mishelle Andrea Almeida Huaraca

Dedico este esfuerzo a Dios primeramente por ser el pilar en mi vida y darme las fuerzas necesarias durante toda mi vida.

A mi familia y a mis grandes amigos Michael Byrd y Margaret Ez por su amor, confianza y apoyo incondicional durante toda mi carrera universitaria.

A Paúl Reyes y a todos mis amigos por su apoyo y por expresarme su constante cariño y apoyo que han sido imprescindibles para llegar a cumplir esta meta anhelada.

Gabriela Alexandra Lima Remache

AGRADECIMIENTO

Nuestros agradecimientos a todos nuestros maestros de la carrera de Ingeniería Ambiental por brindarnos sus conocimientos y enseñanzas, lo cual ayudó a formarnos como profesionales de excelencia y como personas de bien.

Al Ing. Freddy Cuarán por su ayuda, guía y aportación de conocimientos para que este trabajo culmine con éxito.

A la Dra. Cecilia Barba por su apoyo para el desarrollo de este estudio.

Y de manera especial al Centro de Investigación y Valoración de la Biodiversidad “CIVABI”, por la ayuda prestada en sus laboratorios para la realización de la investigación.

Mishelle Andrea Almeida Huaraca

Gabriela Alexandra Lima Remache

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 1	4
MARCO TEÓRICO	4
1.1. Contaminación por metales pesados en el ambiente	4
1.1.1. Metales pesados.....	5
1.1.1.1. <i>Clasificación de metales pesados.</i>	7
1.2. Metales pesados en el suelo	7
1.2.1. Procedencia de los metales pesados en los suelos.....	8
1.2.1.1. <i>Origen natural.</i>	9
1.2.1.2. <i>Origen antropogénico.</i>	9
1.2.2. Acumulación y movilización de metales en el suelo.....	12
1.2.2.1. <i>Factores del suelo que afectan la acumulación y disponibilidad de metales.</i>	13
1.2.3. Efectos de los metales pesados en el suelo.	15
1.3. Indicadores de calidad del suelo	15
1.3.1. Calidad de suelo.	15
1.3.1.1. <i>Indicadores de calidad del suelo.</i>	16
1.4. Plomo	18
1.5. Níquel	18
1.6. Biorremediación	19
1.7. Fitorremediación	20
1.7.1. Tipos de fitorremediación.	21
1.8. Tolerancia de plantas a altas concentraciones de metales pesados	23
1.8.1. La base genética a la tolerancia.	24
1.9. Plantas hiperacumuladoras.....	25
1.10. Dispersión de metales pesados en plantas	26
1.10.1. Transporte de metales pesados en plantas.....	27
1.10.1.1. <i>Fases del proceso por el cual las plantas incorporan y acumulan metales pesados son las siguientes.</i>	28
1.11. Transporte de níquel (Ni) en plantas	29
1.12. Transporte de plomo (Pb) en plantas	29

1.13. Especies forestales de estudio	30
1.13.1. Especies introducidas.....	30
1.13.2. Especies nativas.....	33
1.14. Cuantificación de metales pesados por espectrofotometría de absorción atómica.....	35
1.14.1. Interferencias.	36
1.15. Problemática y situación actual de la contaminación de suelos por metales pesados.....	37
1.15.1. Problemática en el DMQ- parque zonal Puertas del Sol.....	37
1.16. Normativa.....	38
1.16.1. Legislación Nacional.	38
1.16.2. Legislación Local.....	41
CAPÍTULO 2	42
MATERIALES Y MÉTODOS	42
2.1. Zona de estudio	42
2.1.1. Localización geográfica.	42
2.1.2. Clima y Meteorología.	43
2.1.3. Temperatura.	43
2.1.4. Humedad.	43
2.1.5. Suelo.	44
2.1.6. Recurso agua.	45
2.1.7. Medio biótico.	46
2.2. Selección de especies vegetales utilizadas para la investigación.....	48
2.3. Construcción del lugar para trasplante de plántulas	49
2.3.1. Distribución y cercado de las especies vegetales.	51
2.3.2. Identificación y mantenimiento de las especies vegetales.	52
2.4. Materiales.....	53
2.5. Métodos.....	54
2.5.1 Análisis de metales pesados (Pb y Ni) en el suelo.	54
2.5.1.1. <i>Muestreo de suelo</i>	54
2.5.2. Metodología empleada para el análisis químico del suelo.....	55
2.5.3. Metodología empleada para la cuantificación de la concentración de plomo y níquel en suelo.	57
2.6. Análisis de metales pesados (Pb y Ni) en plantas	60

2.6.1. Muestreo de plantas.	60
2.6.2. Metodología empleada para la cuantificación de la concentración de plomo y níquel en plantas.	61
2.7. Cálculos para preparación de ácidos	65
2.7.1. Preparación de ácidos para digestión de muestras de suelo.	65
2.7.2. Preparación de ácidos para digestión de muestras de plantas.	66
2.8. Cálculos estadísticos	66
CAPÍTULO 3.....	67
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	67
3.1. Mortalidad al final de la investigación	67
3.2. Correlación lineal entre pesos, altura vs concentración de Ni y Pb	68
3.2.1. Correlación lineal entre peso versus concentración de Ni y Pb.	69
3.2.2. Correlación lineal entre altura versus concentración de Ni y Pb.....	71
3.3. Análisis de varianza (ADEVA) para concentración de Pb y Ni en plantas	74
3.3.1. Concentración de Ni.	74
3.3.2. Concentración de Pb.	76
CONCLUSIONES	80
RECOMENDACIONES	82
LISTA DE REFERENCIAS	83
ANEXOS	88

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Comportamiento de los contaminantes en el aire, agua y suelo.	5
Tabla 2. Clasificación de metales pesados.	7
Tabla 3. Vías que los metales pesados incorporados al suelo pueden seguir.	12
Tabla 4. Indicadores físicos, químicos y biológicos de la calidad del suelo.	17
Tabla 5. Especificidad de la tolerancia a los metales.	25
Tabla 6. Mecanismos de hiperacumulación.	26
Tabla 7. Especies vegetales elegidas.	49
Tabla 8. DBCA utilizado en el proyecto.	51
Tabla 9. Materiales, equipos y reactivos usados.	54
Tabla 10. ADEVA 1ra muestra 45 días para concentración de Ni en plantas.	74
Tabla 11. ADEVA 2da muestra 90 días para concentración de Ni en plantas.	75
Tabla 12. ADEVA 3ra muestra 135 días para concentración de Ni en plantas.	75
Tabla 13. ADEVA 1ra muestra 45 días para concentración de Pb en plantas.	76
Tabla 14. ADEVA 2da muestra 90 días para concentración de Pb en plantas.	77
Tabla 15. ADEVA 3ra muestra 135 días para concentración de Pb en plantas.	78

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tabla periódica señalando metales pesados contaminantes	6
Figura 2. Principales fuentes de procedencia de metales pesados en suelos.	11
Figura 3. Dinámica de los metales pesados en el suelo	13
Figura 4. Representación esquemática de mecanismos de fitocorrección.	21
Figura 5. Tipos de fitorremediación.	23
Figura 6. Transporte de metales pesados a través de la cadena trófica.....	28
Figura 7. Árbol de Cepillo rojo	31
Figura 8. Árbol de Molle.....	33
Figura 9. Árbol de Guarango.....	34
Figura 10. Árbol de Chilca.....	35
Figura 11. Ubicación de la Urbanización con respecto a la ciudad de Quito.	42
Figura 12. Vista resaltada del área donde se desarrolló el estudio.	46
Figura 13. Flora y Fauna del Parque zonal Puertas del Sol	47
Figura 14. Área elegida para el trasplante de especies vegetales.	50
Figura 15. Vista panorámica del proyecto de investigación	50
Figura 16. Distribución de plantas en el área	52
Figura 17. Identificación de bloques y tratamientos.....	53
Figura 18. Riego y mantenimiento	53
Figura 19. Toma muestra de suelo.....	55
Figura 20. Muestra de suelo en agitador mecánico	56
Figura 21. Calcinación de la muestra de suelo	56
Figura 22. Muestras llevadas al laboratorio	57
Figura 23. Tamizado de muestras secas y listas para la digestión.....	58
Figura 24. Pesaje de muestra de suelo seco en balanza analítica.	58
Figura 25. Adición de agua regia a la muestra de suelo seco.....	59
Figura 26. Filtración en millipore de la muestra digestionada de suelo y aforada a 100 ml.	59
Figura 27. Lectura de muestras de suelo con estándares.	60
Figura 28. Muestras de plantas.....	61
Figura 29. Pesado de muestras y corte.....	62
Figura 30. Colocación de muestras en la estufa.	62

Figura 31. Tamizaje de muestras.....	63
Figura 32. Colocación de ácido nítrico en vasos digestores	64
Figura 33. Muestras de plantas aforadas	64
Figura 34. Estándares de Pb y Ni y medición de concentración.	65
Figura 35. Porcentaje de plantas vivas, vivas en mal estado y muertas del bloque 1.	67
Figura 36. Porcentaje de plantas vivas, vivas en mal estado y muertas del bloque 2.	67
Figura 37. Porcentaje de plantas vivas, vivas en mal estado y muertas del bloque 3.	68
Figura 38. Correlación peso para Tratamiento 1	69
Figura 39. Correlación peso para Tratamiento 2	69
Figura 40. Correlación peso para Tratamiento 3	70
Figura 41. Correlación peso para Tratamiento 4	71
Figura 42. Correlación altura para Tratamiento 1	71
Figura 43. Correlación altura para Tratamiento 2	72
Figura 44. Correlación altura para Tratamiento 3	73
Figura 45. Correlación altura para Tratamiento 4	73
Figura 46. Prueba de Tukey 1ra Muestra 45 días para concentración de Ni en plantas.	74
Figura 47. Prueba de Tukey 2da Muestra 90 días para concentración de Ni en plantas.	75
Figura 48. Prueba de Tukey 3ra Muestra 135 días para concentración de Ni en plantas.	76
Figura 49. Prueba de Tukey 1ra muestra 45 días para concentración de Pb en plantas.	77
Figura 50. Prueba de Tukey 2da Muestra 90 días para concentración de Pb en plantas.	78
Figura 51. Prueba de Tukey 3ra Muestra 135 días para concentración de Pb en plantas.	79

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1.	Registro de concentraciones de Ni y de Pb en la muestra de suelo inicial .88
Anexo 2.	Registro de mortalidad de plantas durante el tiempo de experimentación. 89
Anexo 3.	Registro de pesos de plantas durante el tiempo de experimentación.92
Anexo 4.	Registro de alturas de plantas durante el tiempo de experimentación.93
Anexo 5.	Digestor microondas marca BERGHOF modelo MWS-2.....96
Anexo 6.	Método de BERGHOF para determinación de metales pesados en suelo. .97
Anexo 7.	Método de BERGHOF para determinación de metales pesados en plantas.98
Anexo 8.	Espectrofotómetro de absorción atómica marca VARIAN99
Anexo 9.	Concentraciones de Pb y Ni en plantas, medidas en el espectrofotómetro.100
Anexo 10.	Especies vegetales a los 45, 90 y 135 días101

RESUMEN

En Quito la población se incrementa anualmente un 2,2%, esto conlleva impactos ambientales relacionados con la disposición final de los residuos; ya que estos se acumulan en quebradas sin especificaciones técnicas que representan zonas de riesgo y problemas de salubridad.

Por tanto, el municipio de Quito en el 2012 implemento un plan de desarrollo en el barrio “Puertas del Sol”, que consistió en construir un parque ecológico sobre la antigua escombrera y así recuperar la zona, donde se usó especies vegetales que mostraron resistencia al suelo contaminado con metales pesados, y se pensó en sembrar mayor variedad de especies vegetales.

El trabajo de investigación, se planteó con la finalidad de buscar más especies que ayuden a la fitorremediación, se analizó la capacidad y tolerancia que tienen las especies vegetales cepillo rojo, molle, guarango y chilca en el suelo contaminado con plomo y níquel; las plantas se sembraron en un área de 108 m² en el parque “Puertas del Sol” y se utilizó un DBCA (Diseño de bloques completamente al azar) para parcelar el área de estudio.

Para la cuantificación de plomo y níquel, se usó la técnica de absorción atómica por llama, para muestras de suelo y plantas cada 45, 90 y 135 días.

Se realizó análisis estadísticos entre la biomasa, altura, mortalidad y concentraciones de Ni y Pb en plantas y su desarrollo durante el tiempo de experimentación. Con los resultados obtenidos se determinó si las especies absorben y acumulan plomo y níquel y si son factibles para emplearlas en procesos de fitorremediación.

ABSTRACT

In Quito, population increases 2.2%, and so this city has many environmental impacts associated with waste disposal. This waste accumulates in streams without technical specifications, and that consequently represents areas of risk and health problems.

Therefore, the municipality of Quito in 2012 implemented a development plan in the “Puertas del Sol” neighborhood. This plan consisted in building an ecological park over an old dump. To try to recover this area, the project proposed to plant a wide variety of species that show resistance to soil contaminated with heavy metals.

This research was developed to find more species that help in the phytoremediation process. Furthermore, this study tries to analyze the capacity and tolerance that plant species such as cepillo rojo, molle, guarango, and chilca have with respect to nickel and lead. Plants were planted in an area of 108 m² located at “Puertas del Sol”. A DBCA (block design completely randomized) was used to parcel out the research area.

For quantification of nickel and lead, the technique of flame absorption for soil samples and plants was used at 45, 90, and 135 days.

A statistical analysis was conducted during the experimental period. Variables such as biomass, height, mortality, and Ni-Pb concentrations were measured. The results showed that these species can easily absorb and accumulate Ni-Pb; in this way, these plants can be used efficiently in the phytoremediation process.

INTRODUCCIÓN

La contaminación de suelo, es un problema que trae resultados perjudiciales en el ambiente y la salud de los seres vivos, sobre todo cuando la contaminación se produce por metales pesados, los cuales llegan a los diferentes horizontes del suelo a contaminarlo, por actividades humanas como la minería, escombreras, botaderos, uso de plaguicidas, etc. Lo cual trae pérdida de la biodiversidad del suelo, riesgo para la salud humana, deterioro del patrimonio natural y un desequilibrio ecológico.

Esta contaminación por metales pesados se ha venido produciendo desde que empezó el desarrollo económico lo cual trajo la revolución industrial donde las industrias utilizaban sustancias, que contenían metales pesados.

En respuesta a estos problemas se realizaron investigaciones acerca de la fitorremediación que es una técnica que sirve para absorber y retener los metales pesados ya que se observó que existían especies vegetales capaces de resistir dicha contaminación como al sur de Europa donde se usó plantas del genero *Alyssum*; en Zacatecas, México donde se usó la especie *Larrea tridentata* por nombrar algunos ejemplos, alrededor del mundo se empezaron a realizar estudios donde demostraron que las plantas son una gran herramienta para remediar suelos contaminados con metales pesados. (Diez, 2008).

En el Ecuador se ha realizado algunos estudios, sin embargo estos son deficientes ya que se ha abarcado especies vegetales mayoritariamente para fitorremediación en aguas como *Lemna minor* y *Eichornia crassipes* por nombrar algunas, son pocas las especies estudiadas para recuperar suelos como el *Vetiver* por lo tanto es difícil tener información veraz y de calidad de especies en el Ecuador que podrían ser útiles para fitorremediación.

El municipio del Distrito Metropolitano de Quito desde hace un par de años se ha preocupado por implementar parques ecológicos en lugares recuperados como antiguos botaderos y escombreras, un ejemplo claro es el parque “Puertas del Sol”

que es un lugar donde de a poco se ha ido recuperando no obstante las especies utilizadas en la reforestación del lugar son escasas.

Lo cual es un inconveniente, ya que la falta de diversidad de especies vegetales hace que el suelo sufra un desgaste de nutrientes y cause erosión y no permite saber si más especies se pueden adaptar al suelo y realizar fitorremediación, ya que no existe una experimentación y tampoco una investigación que dé más opciones.

Por tanto, mediante esta investigación, se encontró mayores alternativas de especies vegetales que en el Ecuador pueden realizar descontaminación de suelos mediante la fitorremediación, que son especies capaces de tolerar metales pesados.

Así se contara con una mayor diversidad de especies que en un futuro no solo servirán para fitorremediación del parque Puertas del Sol sino también para remediar otros lugares con el mismo problema de contaminación.

En el aspecto económico el encontrar mayor variedad de especies tolerantes a metales pesados ayuda a implementar técnicas de remediación ambiental a bajo costo con especies abundantes en el territorio ecuatoriano.

Las poblaciones beneficiadas por el uso de nuevas especies vegetales en lugares de reforestación obtienen mayor plusvalía y sobre todo beneficios en la salud.

Ambientalmente conlleva beneficios ya que al formar una cobertura vegetal mejora las propiedades físicas y químicas del suelo, las plantas pueden ser fácilmente objeto de seguimiento, no requiere energía eléctrica y se evita todo tipo de excavaciones y esto ayuda al avance en técnicas de fitorremediación ya que se genera mayor información donde se establece la capacidad y tolerancia de especies poco conocidas en el ámbito de remediación ambiental.

OBJETIVOS

Objetivo general

Analizar la capacidad y tolerancia que presentan las especies forestales introducidas Cepillo Rojo (*Callistemon citrinus*) y Molle (*Schinus areira*) y las especies vegetales nativas Guarango (*Mimosa quitensis*) y Chilca (*Baccharis latifolia*) en suelos contaminados con plomo y níquel en el parque zonal “Puertas del Sol”, Distrito Metropolitano de Quito, 2014.

Objetivos específicos

- Determinar el nivel actual de contaminación por la presencia de los metales pesados plomo y níquel en el suelo del parque zonal Puertas del Sol del DMQ.
- Evaluar el nivel de absorción y acumulación de los metales pesados plomo y níquel en la biomasa de las especies introducidas: Cepillo Rojo (*Callistemon citrinus*), Molle (*Schinus areira*) y las especies nativas: Guarango (*Mimosa quitensis*), Chilca (*Baccharis latifolia*), en el parque zonal Puertas del Sol.
- Comparar el nivel de absorción y acumulación de los metales pesados plomo y níquel en los tejidos vegetales de las especies forestales introducidas y las especies vegetales nativas en suelos contaminados con plomo y níquel en el parque zonal Puertas del Sol del Distrito Metropolitano de Quito 2014.
- Evaluar la factibilidad de las especies forestales y nativas que sean adecuadas para emplearse en el proceso de fitorremediación de suelos contaminados con plomo y níquel.

CAPÍTULO 1

MARCO TEÓRICO

1.1. Contaminación por metales pesados en el ambiente

El término contaminación se refiere a la introducción o incremento anormal de sustancias que pueden ejercer un efecto dañino sobre los organismos en los ecosistemas. A veces, la contaminación es de origen natural, pero por lo general, está relacionada con la actividad del hombre, que en su búsqueda de supervivencia y bienestar dispersa sustancias agresivas, algunas de las cuales pueden ser transformadas por los organismos vivos (biodegradables) y otras que son persistentes (no biodegradables). (Bautista, 1999, pág. 17).

Actualmente, como consecuencia de la fabricación y elaboración de una gran cantidad de productos y la obtención de materias primas, se arrojan a los cauces públicos multitud de sustancias contaminantes que quedan disueltas en el agua o retenidas por las partículas en suspensión y sedimentos. Los ecosistemas terrestres y acuáticos se contaminan además por la liberación de xenobióticos del suelo por las aguas de lluvia y riego que los movilizan y transportan a otros suelos, ríos, lagos y aguas subterráneas. (Guzmán, 2007, pág. 17).

El tiempo de residencia de los contaminantes en el aire es bajo, de algunos minutos a algunos días. De manera muy general, el daño a los organismos se puede clasificar de bajo a medio con una alta uniformidad en la dispersión del contaminante.

En el agua, los contaminantes tienen un tiempo de residencia medio; el daño que causan a los organismos es considerado alto, debido a que los contaminantes se ingieren por esta vía; su uniformidad de dispersión es media.

En el suelo, el tiempo de residencia de los contaminantes suele ser alto y generalmente los contaminantes tanto del aire como del agua llegan a él. El daño a los organismos con frecuencia es de medio a alto; considerándolo

medio para los animales y alto para las plantas, y la uniformidad de la dispersión es de baja a muy baja ya que a menudo la contaminación es puntual.

La contaminación del aire y del agua es muy evidente (**véase tabla 1**), la que más preocupa, y la más estudiada, esto se debe a que en el agua y aire la uniformidad de la dispersión es mayor que en el suelo. (Bautista, 1999, pág. 18).

Tabla 1. Comportamiento de los contaminantes en el aire, agua y suelo.

Elemento	Tiempo de residencia	Uniformidad de la dispersión	Daño a organismos
Aire	Bajo	alta	bajo a medio
Agua	Medio	media	alto
Suelo	Alto	baja	medio a alto

Fuente:(Bautista, 1999)

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Se entiende entonces que el suelo ha sido descuidado y no existen estudios rigurosos en cuanto a la contaminación del mismo sobre todo con metales pesados, que son contaminantes que mayor daño hacen al ambiente.

“El incremento de metales pesados en los suelos inhibe además la actividad enzimática microbiana y reduce la diversidad de las poblaciones de flora y fauna, provocando infertilidad e incrementando los procesos erosivos.” (Ryan & Chaney, 1997).

1.1.1. Metales pesados.

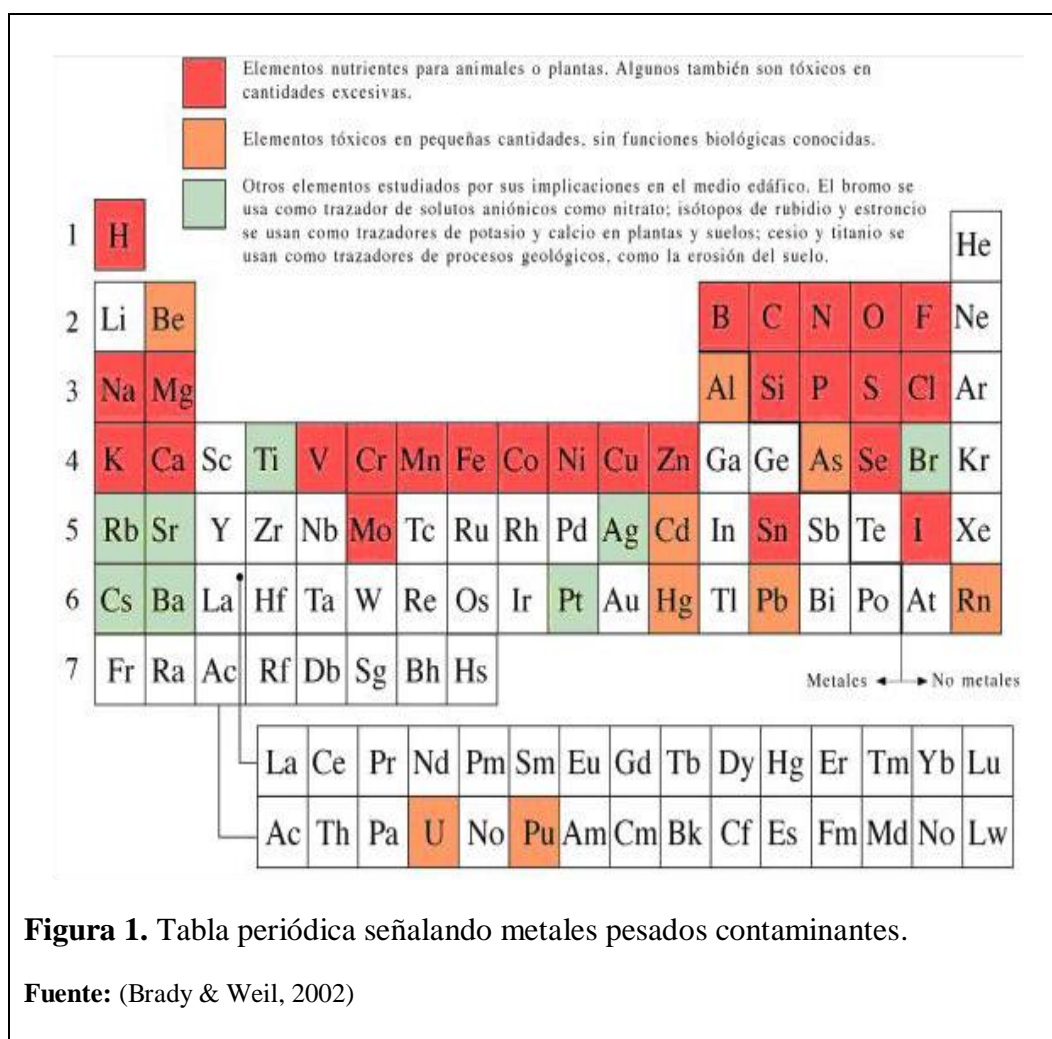
Uno de los mayores contaminantes del ambiente son los metales pesados. Se considera metal pesado a aquel elemento con densidad igual o superior a 5 g/cm³, cuando está en forma elemental, o cuyo número atómico es superior a 20 (excluyendo a los metales alcalinos y alcalino-térreos). Su concentración promedio en la corteza terrestre es inferior al 0.1% y casi siempre menor del 0.01%. Junto a estos metales pesados hay otros elementos químicos denominados metaloides y no metales que suelen englobarse con ellos por presentar orígenes y comportamientos asociados; es el caso del As, Sb, B, Ba y Se. (García & Dorronsoro, 2005).

“Los metales y metaloides que se consideran causantes de problemas de contaminación son: Pb, Cr, Cd, Co, Ni, Cu, Zn, As, Mo, Sn, Ba, Hg.” (Porta, López, & Roquero, 1994).

“El concepto de metal pesado se cruza con el de elemento traza, macroelemento y oligoelemento, porque algunos de los miembros de aquellos grupos son metales pesados, y algunos de los elementos traza no son metales, como es el caso del As”. (López & Grau, 2005).

Las palabras “metal pesado” pueden ser utilizadas generalizando a todos los metales que contaminan el ambiente (**véase figura 1**).

“Sin embargo los metaloides poseen características intermedias entre metales y no metales pero eso no les exenta de ser contaminantes también.” (Diez, 2008, pág. 9).



1.1.1.1. Clasificación de metales pesados.

Se clasifican en dos grupos (véase tabla 2):

- i. **Oligoelementos o micronutrientes:** “Requeridos en pequeñas cantidades traza por plantas y animales, necesarios para que completen su ciclo vital, pasando cierto umbral son tóxicos. Dentro de este grupo se encuentra: As, B, Co, Cr, Mo, Mn, Ni, Se, Zn.” (Nedelkoska & Doran, 2000).
- ii. **Metales pesados sin función biológica conocida:** “La presencia en determinadas cantidades en seres vivos lleva a disfunciones en el funcionamiento de sus organismos. Resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos. Son principalmente: Cd, Hg, Pb, Cu, Sb, Bi.” (Maqueda, 2003).

Tabla 2. Clasificación de metales pesados.

Oligoelementos o Micronutrientes	As, B, Co, Cr, Mo, Mn, Ni, Se, Zn
Metales pesados sin función biológica conocida	Cd, Hg, Pb, Cu, Sb, Bi

Fuente:(Nedelkoska & Doran, 2000)(Maqueda, 2003)

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Los metales pesados ya sean esenciales o sin función biológica conocida cuando su cantidad es en exceso llegan a ser tóxicos para los seres vivos.

1.2. Metales pesados en el suelo

“El suelo es un componente esencial del medio ambiente, base de los ecosistemas terrestres, principio de muchas cadenas tróficas y soporte del medio urbano e industrial. Dentro de sus funciones actúa como tampón, controlando el transporte de elementos químicos y sustancias hacia la atmósfera, hidrosfera y biosfera”. (Kabata-Pendias & Pendias, 2000).

La función del suelo es la productividad, es lo que ayuda a la alimentación de los seres vivos y por lo tanto garantiza la conservación de los mismos, tomando en

cuenta todo esto, es importante que las acciones se centren en mantener las funciones ecológicas y agrícolas del suelo.

“Los suelos interaccionan químicamente con la litosfera, la hidrosfera y la atmósfera y, sobretodo, recibe el impacto de los seres vivos que, directa o indirectamente, pueden romper su equilibrio químico.” (Doménech, 1995).

“Los contaminantes pueden permanecer por largo tiempo en el suelo, lo cual es especialmente grave en el caso de los compuestos inorgánicos, como los metales pesados que son difícilmente degradables.” (Bech J. , 2002)

“Mientras que, los compuestos orgánicos son más o menos biodegradables, excepto en algunos casos recalcitrantes (V. Dioxina), descomponiéndose y eliminándose hacia los freáticos o a la atmósfera en un tiempo no excesivamente largo.” (Bech J. , 2002).

“La contaminación de suelos por metales pesados es uno de los problemas ambientales más serios y tiene significativas implicaciones para la salud humana. Los metales pesados poseen una alta persistencia en el ambiente, baja solubilidad en la biota, y se encuentran clasificados como carcinógenos y mutagénicos”. (Alloway, 1995).

1.2.1. Procedencia de los metales pesados en los suelos.

“El conocimiento de la asociación de los elementos traza con la fase particular del suelo y su afinidad hacia cada constituyente es un factor clave para un mejor entendimiento de los principios que rigen su comportamiento en el suelo.” (Kabata-Pendias & Pendias, 2000).

Para un adecuado equilibrio del ecosistema, el contenido de metales pesados en suelos, debería ser únicamente función de la composición del material original y de los procesos edafogenéticos que en él tienen lugar; sin embargo, la actividad humana ha incrementado el contenido de estos metales en el suelo en cantidades considerables, siendo esta, sin duda, la causa más frecuente de las concentraciones tóxicas. (García & Dorronsoro, 2005).

1.2.1.1. Origen natural.

“Los metales pesados contenidos en el material original, al meteorizarse, se concentran en los suelos. Estas concentraciones naturales de metales pueden llegar a ser tóxicas para el crecimiento de las plantas.” (Duran, 2010).

En condiciones normales los procesos geoquímicos que originan las rocas determinan su contenido en metales pesados.” (Roca, 2004). Rocas básicas y ultramáficas, solidificadas en primer lugar a partir del magma, incorporan metales pesados como el *Co*, *Ni*, *Zn* y *Cr* por reemplazamientos isomórficos de *Fe* y *Mg* en los minerales ferromagnesianos. “En cambio, las rocas ácidas, las últimas en solidificar, tienden a enriquecerse en *Pb*, el cual es capaz de sustituir al *K* en diferentes minerales. (Kidd, Becerra, Garcia, & Monterroso, 2007).

Las arcillas incorporan elementos como el *Fe*, *Zn*, *Cr* y *Mn* al sustituir el *Al* de los octaedros, y adsorben gran cantidad de *Cu*, *Co*, *Mn*, *Ni* y *Zn* gracias a su gran superficie específica. Estas rocas pueden presentar altos contenidos en *Se* (que pueden oscilar entre 10 y 50 mg·kg⁻¹) como son las lutitas del Cretácico del medio oeste de USA. (Reeves, 2006).

Areniscas y rocas carbonatadas, calizas y dolomías suelen tener los contenidos más bajos de metales pesados. La adsorción de metales pesados con la materia orgánica, en ambientes reducidos ricos en restos orgánicos, es una de las principales causas de la alta concentración de metales pesados en las rocas típicas de estos ambientes sedimentarios. (Gong, Rose, & Suhr, 1977).

“Las rocas metamórficas, formadas en condiciones de presión y temperatura, tienen prácticamente los mismos contenidos que las rocas a partir de las cuales se forman.”(Duran, 2010).

1.2.1.2. Origen antropogénico.

Las actividades humanas principalmente las industriales han causado altas concentraciones de metales pesados en el suelo, por ende efectos adversos en los seres vivos y el ambiente (**véase figura 2**).

Las actividades humanas de mayor impacto son:

- i. **Aplicación de productos químicos agrícolas y lodos residuales:** “Los metales pesados son frecuentemente usados por su toxicidad como componentes de fungicidas, pesticidas o desinfectantes”. (Antonovics, Bradshaw, & Turner, 1971). “Los lodos residuales tienen un alto contenido de metales pesados, entre los que cabe destacar *Cd*, *Pb* y *Hg*.” (Kabata-Pendias & Pendias, 2000).
- ii. **Actividades de minería y fundición:** que incluyen la extracción, el procesado preliminar, la evacuación de los residuos y el transporte de los productos semiprosados. Todas estas operaciones pueden producir una contaminación localizada de metales in situ o ex situ. “En los suelos afectados por la minería, las capas superiores de suelos minerales presentan concentraciones elevadas, principalmente, de *Cu*, *Ni*, *As*, *Se*, *Fe* y *Cd*.” (Doménech, 1995).
- iii. **Generación de electricidad y otras actividades industriales:** La combustión de carbón es una de las principales fuentes de deposición de metales en suelos. Las centrales térmicas de combustión de petróleo pueden ser fuentes de *Pb*, *Ni* y *V*. Las mayores fuentes industriales de metales incluyen fábricas de hierro y acero que emiten metales asociados a los minerales de hierro, como el *Ni*. “Las fábricas de baterías, pueden emitir cantidades considerables de *Pb*. Los metales asociados con áreas altamente industrializadas, pueden aportar *As*, *Cd*, *Cr*, *Fe*, *Ni*, *Pb*, *Zn* y *Hg* a los suelos.” (Doménech, 1995).
- iv. **Residuos domésticos:** “Aproximadamente el 10% de la basura está compuesta de metales. También es el caso de uso de aerosoles ricos en *Cu* o conservantes de la madera ricos en *As*, *Cu* y *Cr*”. (Reeves, 2006).

Todas estas actividades aportan metales pesados a los suelos hasta que alcanzan niveles que superan los límites permisibles, causando frecuentemente efectos tóxicos para los organismos. Se estima, por ejemplo, que el aporte de metales como Cd, Cr, Cu, Pb, Hg, Mo, Zn y de metaloides como Se derivado de actividades industriales es aproximadamente de 10 a 20 veces mayor que la cantidad aportada por la meteorización natural de los materiales geológicos. (Nriagu, 1990).

“La toxicidad de los metales pesados emitidos por año excede la de los contaminantes orgánicos y radioactivos, los metales no se biodegradan y generalmente se presentan en formas inmóviles, lo que supone un elevado tiempo de residencia en el ambiente”. (Diez, 2008).

La contaminación por metales pesados se asocia a vertidos localizados, como vertidos de industrias de fundición de metales, cuyo impacto llega a detectarse a varios kilómetros de la fuente de emisión, drenajes, ácidos y aguas de escorrentía generados por la oxidación de materiales de tipo pirítico en escombreras de mina, que pueden alcanzar valores de $\text{pH} < 3$ provocando la disolución de metales. (Carlson & Adriano, 1993).

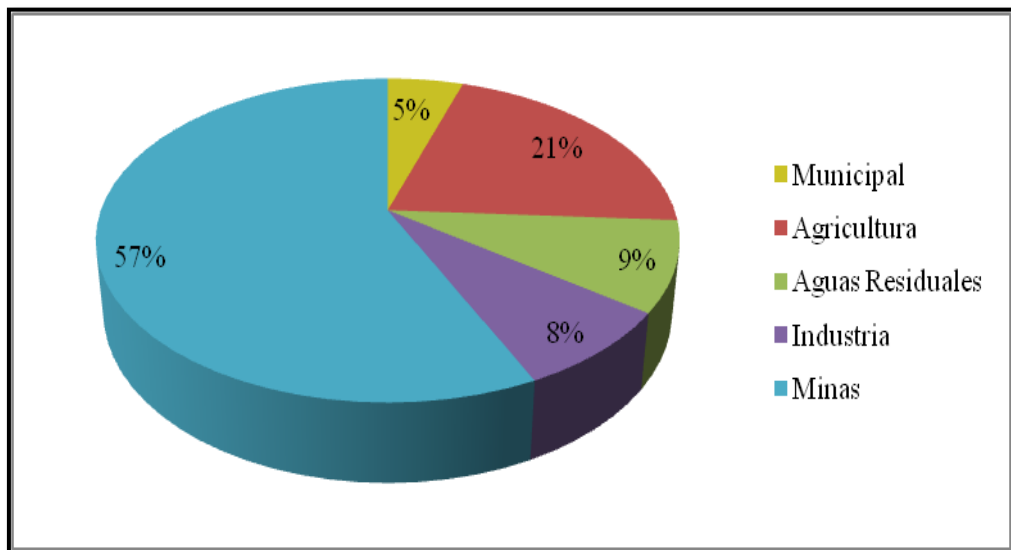


Figura 2. Principales fuentes de procedencia de metales pesados en suelos.

Fuente:(García & Dorronsoro, 2005)

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

1.2.2. Acumulación y movilización de metales en el suelo.

Dependiendo del metal en cuestión, las prácticas de manejo del suelo, como la modificación del pH y la fertilización, pueden tener diferentes efectos sobre la absorción. Por ejemplo, se ha demostrado que la acidificación del suelo favorece la hiperacumulación de Cd o Zn, aunque un exceso de acidez puede inducir fitotoxicidad de Al o Mn. Por el contrario, la absorción y acumulación aumentan con el incremento del pH. (Brown, Foster, & Ostergren, 1999).

La contaminación difusa de metales pesados se asocia con procesos que afectan a grandes áreas de terreno, como la deposición atmosférica, ciertas prácticas agrícolas y el inadecuado reciclaje de basura y aguas residuales. La deposición atmosférica representa una de las mayores fuentes de metales pesados hacia el suelo, donde existe polvo y cenizas volátiles enriquecidas con Pb, Cd, Zn, Cu, Ni. (Mas & Azcúe, 1993) (véase tabla 3).

Tabla 3. Vías que los metales pesados incorporados al suelo pueden seguir.

i.	Quedan retenidos en el suelo, ya sea disueltos en la solución del suelo o bien fijados por procesos de adsorción, complejación o precipitación.
ii.	Son absorbidos por las plantas e incorporados a las cadenas tróficas.
iii.	Se volatilizan a la atmósfera.
iv.	Pueden contaminar a las aguas superficiales o subterráneas

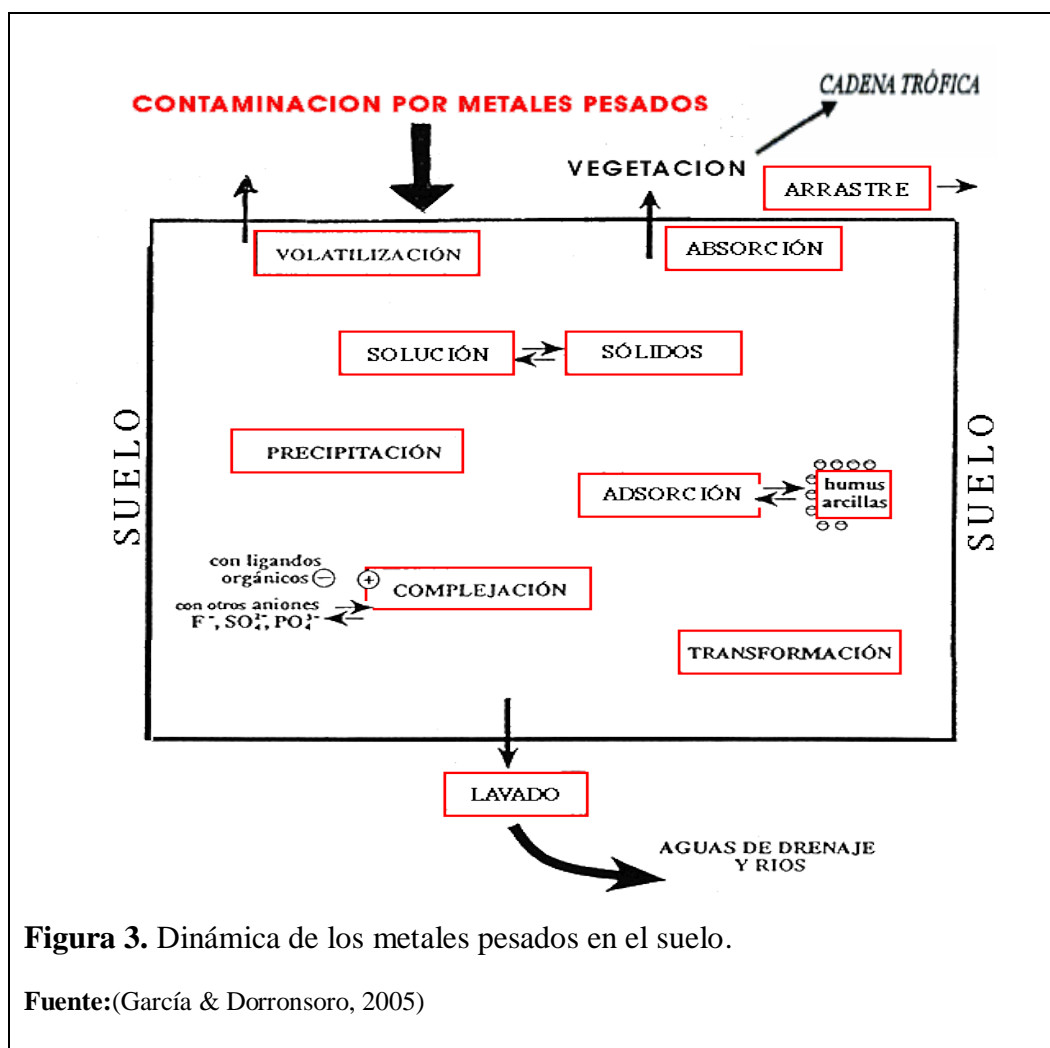
Fuente:(García & Dorronsoro, 2005)

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

“En el suelo los metales pesados pueden estar en seis compartimentos principales, asociados de formas diversas a los constituyentes del suelo.” (López & Grau, 2005) (véase figura 3).

- i. Dentro de las redes cristalinas de los minerales primarios (no alterados, heredados de la roca madre) y de constituyentes secundarios (minerales procedentes de la alteración edafogenética).
- ii. Adsorbidos en las fases de hidróxido de hierro, aluminio y manganeso.
- iii. Secuestrados o ligados a los restos vegetales y animales (que son liberado a medida que se van mineralizando estos residuos).

- iv. Incluidos en las macromoléculas orgánicas.
- v. En forma intercambiable (ion) asociados a la superficie de las arcillas minerales y a la materia orgánica.
- vi. En forma soluble, coloide o particulada, en la solución del suelo.



1.2.2.1. Factores del suelo que afectan la acumulación y disponibilidad de metales.

Los principales factores del suelo que afectan la acumulación y disponibilidad de los metales pesados son:

- a. **pH:** “El pH es uno de los parámetros más importante para definir la movilidad del catión”. (Wong, 2003). “Esencialmente las fracciones más móviles de iones ocurren en los rangos menores de pH. Aunque la mayoría de

los metales tienden a estar más disponibles a pH ácido, algunas especies químicas de Mo y Se están más disponibles a pH básicos.” (Kabata-Pendias & Pendias, 2000).

“En medios alcalinos pueden pasar nuevamente a la solución como hidroxicomplejos.” (López & Grau, 2005). “Pero en general, con un aumento del pH del suelo, la solubilidad de muchos metales pesados disminuye y la concentración de elementos traza es menor en la solución de suelos neutros y básicos que aquellos ligeramente ácidos.” (Kabata-Pendias & Pendias, 2000).

- b. Textura y estructura:** “Tanto la estructura como la textura juegan un papel importante en la entrada, infiltración, adsorción y/o pérdida de los metales pesados en el suelo” (Alloway, 1995). “Las arcillas pueden retener los metales pesados en las posiciones de cambio, impidiendo su paso a los niveles freáticos.” (López & Grau, 2005). Por tanto, los suelos arcillosos, con un claro predominio de los minerales de arcilla, presentan una mayor capacidad de retención de agua y contaminantes, una mayor micro porosidad y, por tanto, una reducción del drenaje interno del suelo. Por el contrario, en los suelos arenosos, con menor de capacidad de fijación y una macro porosidad dominante, los metales pesados se infiltran rápidamente al subsuelo y pueden contaminarlos niveles freáticos. (Doménech, 1995).
- c. Materia Orgánica:** La materia orgánica tiene una gran importancia en todos los procesos de adsorción del suelo. Actúa como ligandos en los complejos de intercambio, mediante la cesión de electrones de ciertas moléculas a cationes metálicos, que aceptan estos electrones, formando los quelatos que pueden migrar con facilidad a lo largo del perfil. (Pilon-Smits, 2005). “La toxicidad de los metales pesados se potencia, en gran medida, por su fuerte tendencia a formar complejos organometálicos, lo que facilita su solubilidad, disponibilidad y dispersión.” (Adriano, 1986).
- d. Carbonatos:** “La presencia de carbonatos garantiza el mantenimiento de altos valores de pH, los cuales tienden a precipitar los metales pesados.” (López & Grau, 2005).

1.2.3. Efectos de los metales pesados en el suelo.

El suelo al contaminarse con metales pesados no se contamina solo, sino que los metales pesados al movilizarse contaminan agua, aire y cadenas tróficas.” (Roca-Fernandez, 2002). Esto sucede porque los niveles máximos permisibles son sobrepasados y trae algunos efectos adversos como:

- a. Inhibición de la actividad enzimática de los mismos debido a la destrucción del poder de autodepuración por procesos de regeneración biológica normales, al haberse superado la capacidad de aceptación del suelo. Se ve afectado el ciclo biogeoquímico y la función de biofiltro.
- b. Disminución cualitativa y cuantitativa del crecimiento normal de las poblaciones de microorganismos y la fauna del suelo o bien, alteración de su diversidad, lo que aumenta la fragilidad del sistema.
- c. Disminución del rendimiento de las cosechas.
- d. Cambios en la composición de los productos, con riesgo para la salud de los consumidores, al entrar determinados elementos en la cadena trófica.
- e. Contaminación de las aguas superficiales y freáticas por procesos de transferencia. Se alcanzan concentraciones superiores a las consideradas aceptables.
- f. Variación de la disponibilidad de elementos a largo plazo en los suelos, como consecuencia de cambios en las propiedades físico-químicas de los mismos.
- g. Reducción de la fertilidad del suelo, al disminuir la flora y fauna del mismo.
- h. Modificación de la estructura del suelo debido a la pérdida de fertilidad del mismo. (Doménech, 1995).

1.3. Indicadores de calidad del suelo

1.3.1. Calidad de suelo.

“La capacidad del suelo para funcionar dentro de los límites de un ecosistema natural o manejado, sostener la productividad de plantas y animales, mantener o mejorar la calidad del aire y del agua, y sostener la salud humana y el hábitat”. (Alloway, 1995).

1.3.1.1. Indicadores de calidad del suelo.

A pesar de la preocupación creciente acerca de la degradación del suelo, de la disminución en su calidad y de su impacto en el bienestar de la humanidad y el ambiente, aún no hay criterios universales para evaluar los cambios en la calidad del suelo. Para hacer operativo este concepto, es preciso contar con variables que puedan servir para evaluar la condición del suelo. Estas variables se conocen como indicadores, pues representan una condición y conllevan información acerca de los cambios o tendencias de esa condición. (Brady & Weil, 2002)

“Los indicadores son instrumentos de análisis que permiten simplificar, cuantificar y comunicar fenómenos complejos. Los indicadores de calidad del suelo pueden ser propiedades físicas, químicas y biológicas, o procesos que ocurren en él.” (Adriano, 1986) (véase **tabla 4**).

- i. Indicadores físicos:** “Las características físicas del suelo son una parte necesaria en la evaluación de la calidad de este recurso, ya que no se pueden mejorar fácilmente”. (Alloway, 1995). “La calidad física del suelo se asocia con el uso eficiente del agua, los nutrientes y los pesticidas, lo cual reduce el efecto invernadero” (Adriano, 1986), y conlleva un incremento de la producción agrícola.

“Esta calidad no se puede medir directamente, pero se infiere a través de los indicadores de la calidad (estáticos o dinámicos) y de la medición de los atributos que están influenciados por el uso y las prácticas de manejo.” (Bech, 2002). La estructura, la densidad aparente, la estabilidad de los agregados, la infiltración, la profundidad del suelo superficial, la capacidad de almacenamiento del agua y la conductividad hidráulica saturada son las características físicas del suelo que se han propuesto como indicadores de su calidad.

- ii. Indicadores químicos:** “Los indicadores químicos se refieren a las condiciones de este tipo que afectan las relaciones suelo-planta, la calidad del agua, la capacidad amortiguadora del suelo, y la disponibilidad de agua y

nutrimentos para las plantas y los microorganismos.” (Bautista, 1999). Entre ellos se encuentran la disponibilidad de nutrientes, el carbono orgánico total, el carbono orgánico lábil, el pH, la conductividad eléctrica, la capacidad de absorción de fosfatos, la capacidad de intercambio de cationes, los cambios en la materia orgánica, el nitrógeno total y el nitrógeno mineralizable.

- iii. Indicadores biológicos:** “Los indicadores biológicos integran una gran cantidad de factores que afectan la calidad del suelo, como la abundancia y los subproductos de los macroinvertebrados.” (Brady & Weil, 2002). “Estos rompen, transportan y mezclan el suelo al construir galerías, nidos, sitios de alimentación, turrículos o compartimientos” (Dushenkov, Nanda-Kumar, & Raskin, 1995); afectan los procesos de manera directa (incorporación y redistribución de varios materiales) o indirecta (formación de comunidades microbiales, transporte de propágulos, antibiosis o reducción selectiva de la viabilidad, etc.) (Wong, 2003); incluyen funciones como la tasa de respiración, el ergosterol y otros subproductos de los hongos, las tasas de descomposición de los residuos vegetales, y el N y el C de la biomasa microbiana. (Doménech, 1995). “Como la biomasa microbiana es mucho más sensible al cambio que el C total, se ha propuesto la relación C microbiano: C orgánico del suelo para detectar cambios tempranos en la dinámica de la materia orgánica.” (Roca-Fernandez, 2002).

Tabla 4. Indicadores físicos, químicos y biológicos de la calidad del suelo.

Indicadores Físicos	Indicadores Químicos	Indicadores Biológicos
Textura del suelo	Materia orgánica (C y N orgánico)	Biomasa microbiana (C y N)
Profundidad del suelo	pH	N potencial mineralizado
Infiltración y densidad aparente	Conductividad eléctrica	Respiración edáfica, contenido de agua, T° del suelo
Capacidad y retención del agua	N, P y K extraíbles	Numero de lombrices
Estabilidad de agregados	Capacidad de intercambio catiónico	Rendimiento del cultivo
	Metales pesados disponibles	

Fuente: (Alloway, 1995)

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

1.4. Plomo

Elemento químico, Pb, número atómico 82 y peso atómico 207.19. El plomo es un metal pesado (densidad relativa, o gravedad específica, de 11.4 a 16°C (61°F)), de color azulado, que se empaña para adquirir un color gris mate. Es flexible, inelástico, se funde con facilidad, se funde a 327.4°C (621.3°F) y hierve a 1725°C (3164°F). Las valencias químicas normales son 2 y 4. Es relativamente resistente al ataque de los ácidos sulfúrico y clorhídrico. Pero se disuelve con lentitud en ácido nítrico.

Es un componente natural de la corteza terrestre, y se encuentran comúnmente en los suelos, plantas y agua a niveles traza. La aparición de Pb metálico en la naturaleza es poco frecuente. Los principales minerales de Pb son la galena (PbS) y cerusita (PbCO₃), anglesita (PbSO₄) y piromorfita (Pb₅(PO₄)₃Cl) son menos importantes, pero se presentan con frecuencia. (Cheng & Hu, 2010).

Los efectos tóxicos producidos por el Pb son conocidos desde hace más de 2000 años puede afectar a casi todos los órganos y sistemas del organismo. El más sensible es el sistema nervioso, especialmente en los niños (en forma orgánica). También daña los riñones y el sistema reproductivo. Una de las principales fuentes de contaminación del ambiente es el proveniente de la combustión de la gasolina, en donde se usa como antidetonante, lo que puede representar una vía importante de entrada en la cadena alimenticia al consumir los animales de áreas contaminadas. (Adriano, 1986).

El plomo puede terminar en el agua y suelos a través de la corrosión de las tuberías de plomo en los sistemas de transportes y a través de la corrosión de pinturas que contienen plomo. No puede ser roto, pero puede convertirse en otros compuestos. (Emsley, 2001)

1.5. Níquel

Símbolo Ni, número atómico 28, metal duro, blanco plateado, dúctil y maleable. La masa atómica del níquel presente en la naturaleza es 58.71.

El níquel es un elemento bastante abundante, constituye cerca de 0.008% de la corteza terrestre y 0.01% de las rocas ígneas. En algunos tipos de meteoritos hay cantidades apreciables de níquel, y se piensa que existen grandes cantidades en el núcleo terrestre. Dos minerales importantes son los sulfuros de hierro y níquel, pentlandita y pirrotita $(\text{Ni, Fe})_x\text{S}_y$; el mineral garnierita, $(\text{Ni, Mg})\text{SiO}_3 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. El níquel se presenta en pequeñas cantidades en plantas y animales. Está presente en pequeñas cantidades en el agua de mar, el petróleo y en la mayor parte del carbón. (Emsley, 2001).

Debido a sus propiedades fisicoquímicas es ampliamente utilizado en la industria moderna. Entre los usos del Ni tenemos: de aleaciones con Cu, Fe y Al, preparación de aceros especiales, niquelado por electrólisis, catalizador en los reactores químicos y fabricación de baterías de Ni-Cd. Debido al alto consumo de productos que contienen este metal ocasionan la contaminación ambiental por Ni y sus derivados en las diferentes etapas de producción, reciclaje y eliminación. La exposición humana al Ni se produce fundamentalmente por inhalación y por ingestión. Cantidades significativas de Ni en diferentes formas se pueden depositar en el cuerpo humano a través de la exposición ocupacional y la dieta diaria, lo cual puede generar efectos nocivos sobre la salud humana. Por contacto puede ocasionar dermatitis que es la reacción más común y conocida. (Cheng & Hu, 2010).

A pesar de la acumulación de Ni en el cuerpo a través de la exposición crónica puede conducir a la fibrosis pulmonar, enfermedades cardiovasculares y renales; los problemas más graves se relacionan con la actividad cancerígena de Ni. El Ni se encuentra en todos los suelos presentes en formas insolubles (como sulfuros y silicatos) y un gran número de formas solubles, este puede ser liberado por emisiones volcánicas. También se encuentra en meteoritos y en el suelo de los océanos (Gong, Rose, & Suhr, 1977).

1.6. Biorremediación

El término biorremediación fue acuñado a principios de la década de los 80's, y

proviene del concepto de remediación, que hace referencia a la aplicación de estrategias físico-químicas para evitar el daño y la contaminación en suelos.

La biorremediación surge como una rama de la biotecnología que busca resolver los problemas de contaminación mediante el uso de seres vivos (microorganismos y plantas) capaces de degradar o acumular compuestos que provocan desequilibrio en el medio ambiente, ya sea suelo, sedimento, fango o mar. (Ryan & Chaney, 1997).

Los procesos de biorremediación pueden ser de tres tipos:

- i. **Degradación enzimática:** “Este tipo de degradación consiste en el empleo de enzimas en el sitio contaminado para degradar las sustancias nocivas”. (Alloway, 1995).
- ii. **Remediación microbiana.** Se usan microorganismos directamente en el foco de la contaminación, pueden ser los ya existentes (autóctonos) en el sitio contaminado o pueden provenir de otros ecosistemas, en cuyo caso deben ser agregados o inoculados.
- iii. **Fitorremediación.** “El uso de plantas para limpiar ambientes contaminados. Debido a la capacidad que tienen algunas especies vegetales de absorber, acumular y/o tolerar altas concentraciones de contaminantes como metales pesados, compuestos orgánicos y radioactivos.” (Alloway, 1995).

1.7. Fitorremediación

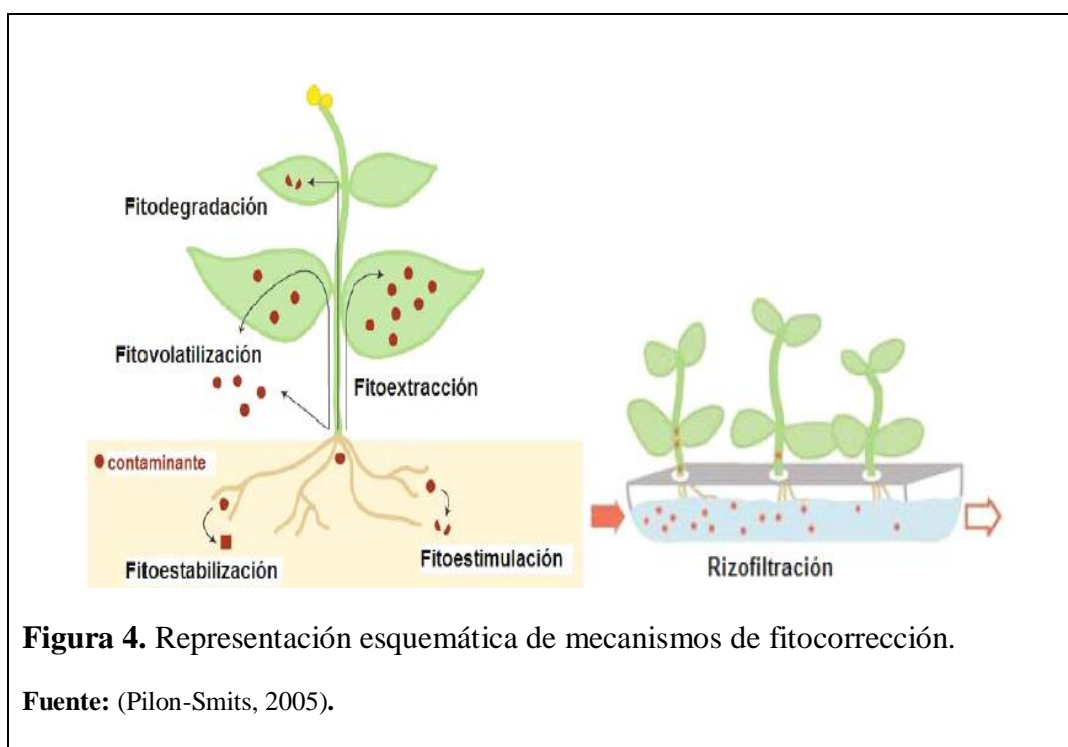
La fitorremediación aprovecha la capacidad de ciertas plantas para absorber, acumular, metabolizar, volatilizar o estabilizar contaminantes presentes en el suelo, aire, agua o sedimentos como: metales pesados, metales radioactivos, compuestos orgánicos y compuestos derivados del petróleo.

“La fitorremediación de suelos contaminados se basa en el uso conjunto de plantas, enmiendas del suelo y técnicas agronómicas para eliminar, retener, o disminuir la toxicidad de los contaminantes del suelo.”(Ryan & Chaney, 1997).

Este grupo de fitotecnologías reúne un gran número de ventajas, especialmente la limpieza y la economía; no utilizan reactivos químicos peligrosos, ni afectan negativamente a la estructura del suelo, sólo aplican prácticas agrícolas comunes; además, el proceso se realiza '*in situ*' evitando costosos transportes (Baker & Brooks, 1989). Estas fitotecnologías se pueden aplicar tanto a contaminantes orgánicos como inorgánicos, presentes en sustratos sólidos, líquidos o en el aire.

“Dependiendo del tipo de contaminante, las condiciones del sitio y el nivel de limpieza requerido; las tecnologías de fitorremediación se pueden utilizar como medio de contención (rizofiltración, fitoestabilización y fitoinmovilización) o eliminación (fitodegradación, fitoextracción y fitovolatilización)”. (Maqueda, 2003).

1.7.1. Tipos de fitorremediación.

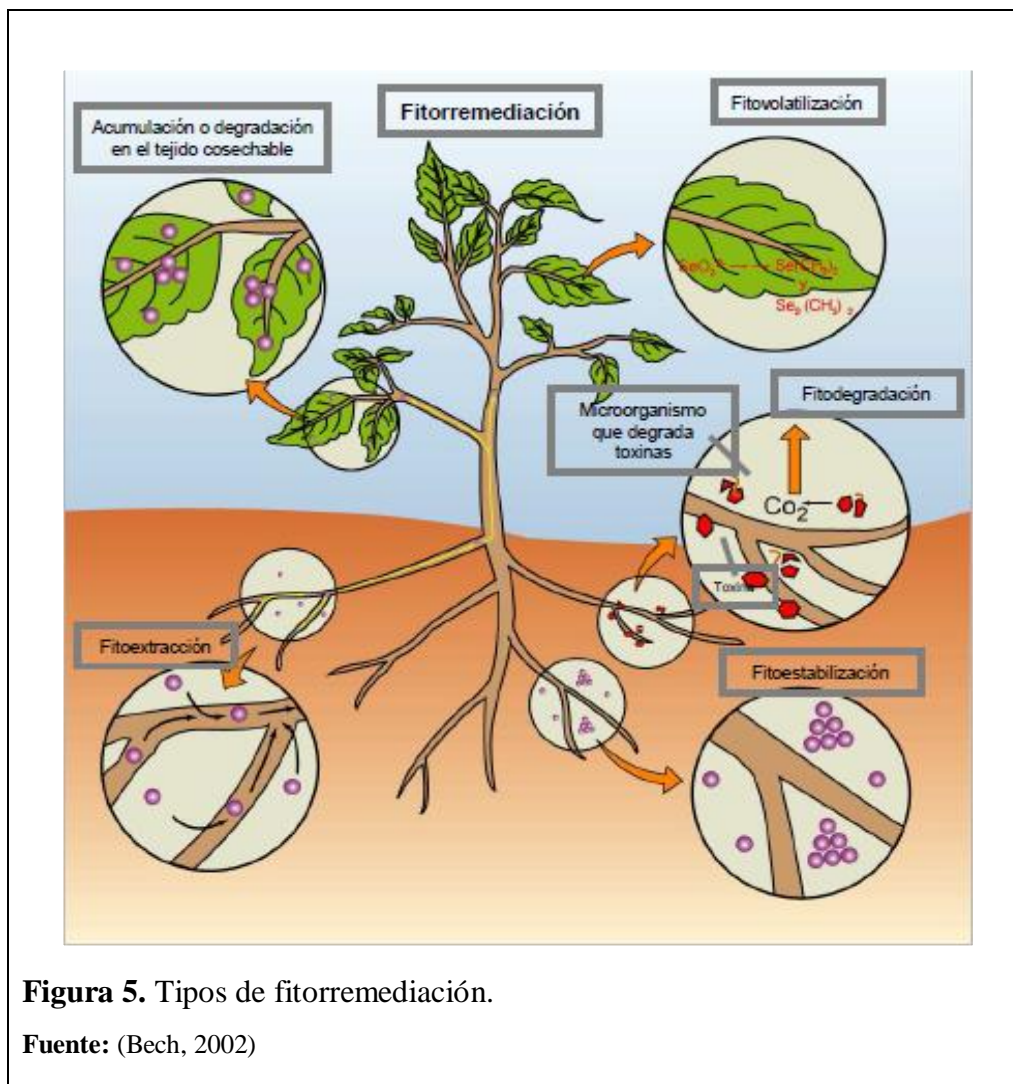


- a) **Fitoextracción:** La fitoextracción o fitoacumulación consiste en la absorción de metales contaminantes mediante las raíces de las plantas y su acumulación en tallos y hojas. El primer paso para la aplicación de esta técnica es la selección de las especies de planta más adecuada para los metales presentes y las características del emplazamiento. Una vez completado el desarrollo

vegetativo de la planta el siguiente paso es cortarlas y proceder a su incineración y traslado de las cenizas a un vertedero de seguridad. “La fitoacumulación se puede repetir ilimitadamente hasta que la concentración remanente de metales en el suelo esté dentro de los límites considerados como aceptables.” (Brady & Weil, 2002).

- b) **Fitoestabilización:** La fitoestabilización inmoviliza contaminantes en el suelo a través de su absorción y acumulación en las raíces o bien, por precipitación en la zona de la rizosfera. Este proceso reduce la movilidad de los contaminantes y evita su migración a las aguas subterráneas o al aire (Antonovics, Bradshaw, & Turner, 1971). “La fitoestabilización es efectiva en suelos de textura fina con alto contenido de materia orgánica.” (Nedelkoska & Doran, 2000). Se aplica principalmente en terrenos extensos en donde existe contaminación superficial. Esta tecnología tiene como ventajas, sobre otros métodos de remediación de suelos, que es de menor costo, fácil de aplicar y estéticamente agradable.
- c) **Fitoimmobilización:** “La fitoimmobilización provoca la sujeción y reducción de la biodisponibilidad de los contaminantes mediante la producción de compuestos químicos en la interfaz suelo-raíz, los que inactivan las sustancias tóxicas, ya sea por procesos de absorción, adsorción o precipitación”. (Reeves, 2006).
- d) **Fitovolatilización:** “La fitovolatilización se produce a medida que los árboles y otras plantas en crecimiento absorben agua junto con contaminantes orgánicos e inorgánicos. Algunos de estos pueden llegar hasta las hojas y evaporarse o volatilizarse en la atmósfera”. (Maqueda, 2003).
- e) **Fitodegradación:** En la fitodegradación las plantas y los microorganismos asociados a ellas degradan los contaminantes orgánicos en productos inofensivos, o bien, mineralizarlos hasta CO₂ y H₂O. En este proceso los contaminantes son metabolizados dentro de los tejidos vegetales y las plantas producen enzimas como la dehalogenasa y la oxigenasa, que ayudan a catalizar la degradación. (Wong, 2003).

f) **Rizofiltración:** “La rizofiltración utiliza las plantas para eliminar del medio hídrico contaminantes a través de la raíz.” (Baker & Brooks, 1989). En la rizofiltración estas plantas se cultivan de manera hidropónica. Cuando el sistema radicular está bien desarrollado, las plantas se introducen en el agua contaminada con metales, en donde las raíces los absorben y acumulan. A medida que las raíces se van saturando, las plantas se cosechan y se disponen para su uso final. (Nedelkoska & Doran, 2000) (véase figura 5).



1.8. Tolerancia de plantas a altas concentraciones de metales pesados

“La tolerancia hacia los metales pesados está representada por la habilidad de sobrevivir en un suelo que es tóxico a otras plantas, y se manifiesta mediante una

interacción entre el genotipo y su ambiente, lo cual determina su sobrevivencia.” (Ryan & Chaney, 1997).

“Los mecanismos de tolerancia son en gran parte internos: los metales son absorbidos por plantas crecidas en sustrato metalífero, presentando una serie de adaptaciones fisiológicas y bioquímicas desarrolladas en varios grados para diferentes metales en diferentes especies y poblaciones”. (Baker & Brooks, 1989)

1.8.1. La base genética a la tolerancia.

El genotipo y el ambiente producen una variación en el fenotipo del organismo y la proporción de la variabilidad fenotípica total debido a los efectos genéticos aditivos (como es el caso de la tolerancia hacia los metales pesados) se denomina herencia en sentido limitado. (Antonovics, Bradshaw, & Turner, 1971).

De acuerdo a lo anterior (Antonovics, Bradshaw, & Turner, 1971) sugieren que la base genética de la tolerancia hacia los metales pesados, es altamente heredable, lo que involucra una rápida respuesta frente a la selección, debido al importante componente genético aditivo que controla la variación de la tolerancia.

Estos autores señalan que las poblaciones tolerantes a los metales han debido surgir de poblaciones normales que nunca habían experimentado la toxicidad metálica y por tanto, no eran tolerantes. Lo anterior sugiere que la selección natural puede crear fácilmente una población adaptada, aunque solo si en la población original existe la variabilidad necesaria, de lo contrario la selección natural no tendría ningún efecto evolutivo. Existen, por tanto, muchas especies que no son capaces de desarrollar una tolerancia por falta de variabilidad y no por falta de selección natural, ya que viven en las zonas cercanas y extienden sus semillas a las áreas contaminadas.

Los costos de la tolerancia pueden manifestarse al crecer la planta en suelos no contaminados (Antonovics, Bradshaw, & Turner, 1971) demostró que muchas plantas tolerantes han presentado menos crecimiento y una menor cantidad de biomasa en comparación con otras plantas no tolerantes, lo que se puede atribuir a la energía gastada para la operación de los mecanismos de tolerancia involucrados.

“La tolerancia es un factor genéticamente estable y de carácter heredable. De esta manera, las semillas de plantas específicas pueden ser usadas sin perder su habilidad”. (Ryan & Chaney, 1997) (véase **tabla 5**).

Tabla 5. Especificidad de la tolerancia a los metales.

Tolerancia múltiple	Tolerancia constitucional	Tolerancia Facultativa
La tolerancia es específica hacia un metal en particular pero no siempre confiere una tolerancia significativa hacia otros metales.	Se define como la no evolución de las razas tolerantes.	Especies capaces de acumular metales pesados en suelos metalíferos pero en normales no

Fuente:(Bech, 2002)

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

1.9. Plantas hiperacumuladoras

Algunas plantas hiperacumulan metales (Ni, Zn, Cu y Cr) y radionúclidos. La hiperacumulación de metales pesados es definida como la acumulación de más del 0.1% por peso de materia seca en tejidos de plantas (0.01% de Cd). La hiperacumulación de los elementos más comunes como Fe y Mn es definida como más del 1% del elemento por peso de materia seca en tejidos de plantas. En el proceso de hiperacumulación de contaminantes, algunas plantas pueden remediar la contaminación de suelos dejándola en niveles aceptables. (Dushenkov, Nanda-Kumar, & Raskin, 1995).

“Algunas plantas pueden crecer en áreas contaminadas y tolerar la hiperacumulación de metales y otros contaminantes.” (Alloway, 1995). Otras plantas pueden morir o experimentar un estrés severo bajo condiciones de hiperacumulación. Las plantas menos tolerantes pueden también ser utilizadas en áreas de contaminación después de cosechar y disponer las plantas que han hiperacumulado. “Otra opción es recuperar el contaminante después de cosechar las plantas.” (Dushenkov, Nanda-Kumar, & Raskin, 1995).

“Muchas hiperacumuladoras son difíciles de manejar y tienen un sistema radicular superficial, y su interés es por lo tanto limitado en el caso de contaminación a niveles

profundos. Cerca de 400 especies de plantas han sido identificadas como hiperacumuladoras naturales de metales, representando menos del 0.2% de todas las angiospermas”. (Baker & Brooks, 1989). “El género *Thlaspi* contiene especies que hiperacumulan Zn, Ni, Cd y Pb. El girasol (*Helianthus annuus*) es una rizofiltradora potencial de los metales Cd, Ni, Cu, Zn, Cr y Pb”. (Nedelkoska & Doran, 2000).

“En la Asteraceae se ha reportado por ejemplo tolerancia al Pb en *Sonchus oleraceus*. Varias especies de plantas clasificadas como acumuladoras poseen la habilidad de extraer y acumular elevadas cantidades de miligramos por Kg de metales pesados.” (Nedelkoska & Doran, 2000). “Desafortunadamente algunas especies usarlas para fitorremediación es limitada, porque son especies de lento crecimiento que producen una baja biomasa y tienen patrones indefinidos de crecimiento.” (Wong, 2003). “La habilidad que tienen ciertas plantas de desarrollar resistencia contra daños ocasionados por metales pesados, es un carácter fijado genéticamente, pero modificable por adaptación.” (Mas & Azcúe, 1993). (véase **tabla 6**)

Tabla 6. Mecanismos de hiperacumulación.

Formación de complejos y compartimentación	Hipótesis de Deposición	Absorción inadvertida	Como mecanismo de defensa ante condiciones bióticas o abióticas de stress
Metales pesados son llevados desde zonas con un metabolismo activo (citoplasma), a lugares con poca actividad metabólica (pared celular, vacuolas)	Las hiperacumuladoras alejan los metales de la raíz, acumulándolos en las partes abscisas(hojas viejas), lavadas por la lluvia (epidermis, pelos) o quemadas	Se cree que la hiperacumulación de metales es un subproducto de un mecanismo de adaptación hacia otras características adversas del suelo.	Protección que el metal confiere a la planta cuando es más tóxico para el patógeno o el herbívoro, impide la virulencia e incrementa la resistencia.

Fuente:(Baker & Brooks, 1989)

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

1.10. Dispersión de metales pesados en plantas

Todas las plantas absorben metales del suelo donde se encuentran pero en

distinto grado, dependiendo de las especies vegetales, y de las características y contenido en metales del suelo. Las plantas pueden adoptar distintas estrategias frente a la presencia de metales en su entorno. (Baker & Brooks, 1989).

Dentro de los metales pesados, los denominados oligoelementos, y que pueden servir como micronutrientes para los cultivos, ya que son requeridos en pequeñas cantidades y son necesarios para que los organismos completen su ciclo vital. Pasado cierto umbral se vuelven tóxicos, como el B, Co, Cr, Cu, Mo, Mn, Ni, Fe, Se y Zn y el metaloide As. También hay metales pesados sin función biológica conocida, cuya presencia en determinadas cantidades en seres vivos lleva aparejada disfunciones en el funcionamiento de sus organismos. Resultan altamente tóxicos y presentan la propiedad de acumularse en los organismos vivos, elementos tales como el Cd, Hg, Pb, Sb, Bi, Sn, Tl. (García & Dorronsoro, 2005).

“Cuando el contenido de los metales pesados en el suelo alcanza niveles que rebasan los límites máximos permitidos causan efectos inmediatos como inhibición de crecimiento normal y el desarrollo de las plantas.” (García & Dorronsoro, 2005).

1.10.1. Transporte de metales pesados en plantas.

“Los metales pesados son elementos químicos que presentan una densidad igual o superior a 5 g/cm^3 cuando están en forma elemental o cuyo número atómico es superior a 20.” (Nedelkoska & Doran, 2000). “Muestran una elevada tendencia a bioacumularse y a biomagnificarse a través de su paso por los distintos eslabones de la cadena trófica.” (Bech, 2002). **(véase figura 6).**

“La mayoría de los metales tienden a estar más disponibles a pH ácido, excepto el As, Mo, Se y Cr, los cuales tienden a estar más disponibles a pH alcalino”. (Kabata-Pendias & Pendias, 2000).

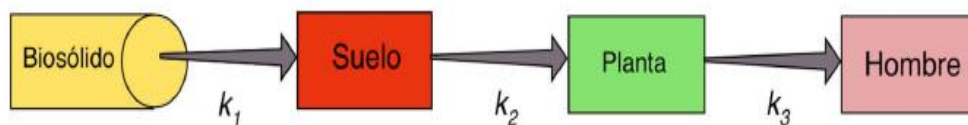


Figura 6. Transporte de metales pesados a través de la cadena trófica.

Fuente: Cumbre mundial de cacao 2013

El pH es un parámetro importante para definir la movilidad del catión, debido a que en medios de pH moderadamente alto se produce la precipitación como hidróxidos. En medios muy alcalinos, pueden nuevamente pasar a la solución como hidroxicomplejos. La adsorción de los metales pesados está fuertemente condicionada por el pH del suelo. (Alloway, 1995).

1.10.1.1. Fases del proceso por el cual las plantas incorporan y acumulan metales pesados son las siguientes.

Fase I. Implica el transporte de los metales pesados al interior de la planta y, después, al interior de la célula. La raíz constituye el tejido de entrada principal de los metales, los cuales llegan por difusión en el medio, mediante flujo masivo o por intercambio catiónico. La raíz posee cargas negativas en sus células, debido a la presencia de grupos carboxilo, que interaccionan con las positivas de los metales pesados, creando un equilibrio dinámico que facilita la entrada hacia el interior celular, ya sea por vía apoplástica o simplástica. (Baker & Brooks, 1989).

Fase II. Una vez dentro de la planta, las especies metálicas son secuestradas o acomplexadas mediante la unión de ligandos específicos. Entre los quelantes producidos por las plantas se encuentran los ácidos orgánicos (ácidos cítrico, oxálico y málico), algunos aminoácidos (histidina y cisteína) y dos clases de péptidos: fitoquelatinas y metaloteínas. Las fitoquelatinas son ligandos de alta afinidad que tienen como sustrato al glutatión. Están constituidas básicamente por 3 aminoácidos: ácido glutámico, cisteína y glicina, unidos por enlaces

peptídicos. Las metalotioneinas son polipéptidos de unos 70-75 aminoácidos con un alto contenido en cisteína, aminoácido capaz de formar complejos con cationes mediante el grupo sulfidrilo. Tienen una marcada afinidad por las formas iónicas de Zn, Cd, Hg y Cu. (Baker & Brooks, 1989)

Fase III. “Involucra la detoxificación, proceso por el cual, el complejo ligando-metal queda retenido en la vacuola.” (Baker & Brooks, 1989).

1.11. Transporte de níquel (Ni) en plantas

“El Ni es un elemento esencial para el metabolismo de las plantas, aun cuando estas requieren menos de 0.001 mg/kg de peso seco.” (Roca, 2004).

“La toxicidad de este elemento depende de la concentración, la forma química y su persistencia.” (Brady & Weil, 2002).

El Ni puede llegar a ser menos adsorbido en suelos, pero puede ser fácilmente adsorbido por las plantas y ser ligeramente tóxico para las mismas, siendo un elemento móvil en los tejidos de las plantas, se acumulan preferiblemente en las hojas y en las semillas. (Wong, 2003).

“Algunas de las características que influyen la biodisponibilidad del Ni a las plantas, incluyen el pH, y el contenido de la materia orgánica, de arcilla y de óxidos hidróxidos.” (Wong, 2003).

1.12. Transporte de plomo (Pb) en plantas

“Según lo reportado por varios autores, el plomo puede causar diversos daños en las plantas y en puede causar diversos daños en las plantas y en diferentes grados de acumulación.” (Kabata-Pendias & Pendias, 2000).

En algunas especies, la acumulación de plomo, a medida que se aumenta las dosis en el suelo hasta niveles menores a 1000mg de Pb por Kg-1 de suelo, tiende a incrementarse rápidamente en los órganos de la planta que éstas no lo

toleran y mueren. Los mecanismos de fitotoxicidad de Pb están relacionadas, afirman algunos autores, con la permeabilidad de la membrana celular, reacciones de grupos sulfhidrilos (-SH) con cationes y afinidad para reaccionar con grupos fosfatos (Kabata-Pendias & Pendias, 2000).

“En algunas plantas el Pb es capaz de acumularse principalmente en las raíces siendo mínima su presencia en otras partes u órganos de los cultivos”. (Kabata-Pendias & Pendias, 2000); “Aunque algunos otros autores han reportados trazas de este elemento incluso en granos como los de cebada” (López & Grau, 2005). De manera similar su disponibilidad para las plantas está en función del pH del suelo.

1.13. Especies forestales de estudio

1.13.1. Especies introducidas.

a) Cepillo Rojo (*Callistemon citrinus*)

Aspectos botánicos: Los miembros de la familia *Myrtaceae* son plantas dicotiledóneas, todas las especies son arboladas, presentan aceites esenciales, y la flor casi siempre presenta sus verticilos en múltiplos de cuatro o cinco. Estos árboles presentan hojas perenes, alternas y normalmente con el margen de sus hojas no dentado, estípulas efímeras o ausentes, con puntuaciones glandulares, aromáticas.

“Estos arbustos y arbolitos australianos perennifolios presentan magnificas flores de largos estambres, en su mayor parte rojas, en densas espigas cilíndricas. Las flores son ricas en néctar y atraen a los pájaros, incluyendo loritos, en sus regiones de origen”. (Prado, 2000).

Distribución: (*Citrinus*, por su aroma a limón), también conocido con el nombre común de árbol del Cepillo o Escobillón Rojo, este arbusto denso de hojas rígidas, ampliamente distribuido por la costa sudeste de Australia, fue uno de los primeros limpia tubos introducidos en cultivos. Es una planta recia y vigorosa, crece bastante rápido hasta 3m, aunque después suele mantener durante década el mismo tamaño, con un tronco corto basal. Las espigas, erectas y de color

escarlata o rojo, miden 10 cm de largo y aparecen a finales de la primavera y en verano, y a menudo también en otoño. (Prado, 2000) (**véase figura 7**).

Clima: Se desarrolla muy bien en climas templados, aunque tolera heladas o bajas temperaturas, siempre y cuando no sean prolongadas.

Suelo: “Aunque se adapta a los suelos pobres, tiene su mejor desarrollo en los fértiles y bien drenados, con ligera tendencia acida. Algo sensible a los suelos muy calizos. Prefiere situaciones soleadas”. (Prado, 2000).

Usos: Al poseer una floración tan llamativa en una época del año en que no se encuentran muchas plantas con flores, tiene un lugar destacado en los jardines y es un gran punto de atracción. Se lo puede ubicar aislado, como único ejemplar, o asociado con otros arbustos de follajes diferentes, en grupos, formando masas en superficies bien extensas. (Prado, 2000)



Figura 7. Árbol de Cepillo rojo.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

b) Especie Molle (*Schinus areira*).

Aspectos Botánicos: La familia *Anacardiaceae* representa a árboles o arbustos, menos frecuentemente trepadoras, arbustos apoyantes, o lianas; canales resiníferos presentes, resina clara cuando está fresca, oscura al secarse, comúnmente causantes de dermatitis, carece de estípulas, sus hojas son alternas, frecuentemente agrupadas en las puntas de las ramas, comúnmente pinnadas, a veces simples. Se caracterizan por crecer en ambientes húmedos a secos, generalmente en tierras bajas.

S. areira es un árbol perenne siempre verde, conocido comúnmente como Molle o falso pimienta, puede alcanzar 12 m de altura y 50 cm de DAP, cubierto por corteza agrietada, parda a veces rojiza, escamosa, impregnada de una resina muy fragante, presenta una copa redonda grande. “Las hojas son compuestas, imparipinadas, alternas de entre 15 y 25 cm de largo, ubicadas en ramillas péndulas alternas.” (Dushenkov, Nanda-Kumar, & Raskin, 1995).

Hábitat y dispersión: Este árbol se lo observa en los lugares secos de los valles interandinos, crece con gran velocidad y se adapta con facilidad a suelos muy distintos, tolera suelos superficiales, crece bien en suelos arcillosos y arenosos, pero sueltos, aunque no tolera el anegamiento ni la alcalinidad extrema. Son exigentes en luz y son resistentes a la sequía y a las heladas, aunque los ejemplares juveniles pueden padecer los extremos de frío. El rango de distribución de esta especie en el Ecuador va desde los 0 a 3000 msnm. (Prado, 2000) (véase figura 8)

Uso: “Por su vasta copa se lo aprecia en jardinería, aunque es excesivamente grande para uso urbano, por sus características el molle es utilizado para la recuperación de los suelos degradados en sitios áridos y erosionados.” (Kabata-Pendias & Pendias, 2000).



Figura 8. Árbol de Molle.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

1.13.2. Especies nativas.

a) Guarango (*Mimosa quitensis*)

Aspectos botánicos: De la familia Mimosaceae, es un árbol espinoso pequeño ramificado de aproximadamente 8 m de altura, pudiendo llegar a tener 10 m con un diámetro de 30 cm. Su tronco es muy ramificado y tiene espinas.

Cuando es joven su corteza es de color café oscuro, la corteza externa es café gris y fisurada.

Presenta una copa abierta y bastante frondosa alcanzando diámetros de hasta 15 m. Sus hojas son de color verde brillante, alternadas en espiral con 6 a 8 pares de foliolos, ovalados de 3 cm de largo por 2 cm de ancho y pueden perder las hojas en la estación seca. (Emsley, 2001).

Presenta inflorescencias en racimos de 40 a 100 flores hermafroditas, que poseen un cáliz con 5 pétalos amarillos con manchas rojizas. Sus frutos se producen a partir de los 5 años, son legumbres que cambian de color de verde a rosado y finalmente a rojo parduzco de 5 – 10 cm de largo. (Prado, 2000).

Distribución: “Especie nativa de los valles andinos de Bolivia, Colombia, Ecuador y Perú. En el Ecuador está presente en el callejón interandino, se desarrolla en el bosque seco montano en zonas con altitudes de 1500 a 3000 msnm”. (Prado, 2000) (véase figura 9).

Aspectos silviculturales: Se desarrolla en temperaturas de 12°C a 22 °C es poco exigente en precipitación desde 300 mm/año, es resistente a la sequía. Acepta hasta suelos pedregosos y de poco espesor. Es susceptible a las heladas y al suelo demasiado alcalino. Es una planta rustica, se adapta a gran variedad de suelos. Su raíz crece rápido hasta 10 cm y luego es de lento crecimiento. (Prado, 2000).

Usos: “Es fijadora de nitrógeno y se usa como barrera viva y especie nectarífera para abejas, su madera es muy utilizada”. (Mas & Azcúe, 1993).



Figura 9. Árbol de Guarango.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

b) Chilca (*Baccharis latifolia*)

Aspectos botánicos: Es una planta perenne originaria de América, su follaje es denso y su tallo enjuto, se pueden desarrollar en suelo secos o salino. Sus hojas son

alternas, duras, coriáceas dentadas o lobadas. Se encuentra creciendo en los potreros junto a otras plantas. “Esta especie es ligeramente resinosa, crecen en panículas en los ápices de las ramas y carecen de las típicas flores liguladas. Aunque la mayoría son plantas de crecimiento exuberante sin valor ornamental”. (Prado, 2000).

Aspectos silviculturales: “Se cultiva fácilmente en suelos medianamente fértiles, sin embargo son muy resistentes a los suelos salinos, y resistentes a heladas. Se multiplican por pequeños esquejes apicales o semillas (**véase figura 10**). Ayuda a la retención hídrica”. (Prado, 2000).

Usos: “Se usa en medicina natural para infecciones y se usa para leña y para acelerar la germinación del maíz”. (Brady & Weil, 2002).



Figura 10. Árbol de Chilca.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

1.14. Cuantificación de metales pesados por espectrofotometría de absorción atómica

En la espectrofotometría de absorción atómica (EAA) con llama (aspiración directa) la muestra se aspira y atomiza en una llama. Un rayo de luz

proveniente de una lámpara de cátodo hueco, o de una lámpara de descarga, se dirige a través de la llama a un monocromador y a un detector que mide la cantidad de luz absorbida. La absorción depende de la presencia de los átomos libres en la llama. Debido a que la longitud de onda del rayo de luz es característica del elemento que se está determinando, la luz absorbida por la llama es una medida de la concentración del metal en la muestra. (Antonovics, Bradshaw, & Turner, 1971).

La técnica es simple, rápida y aplicable a un gran número de elementos. Pero, aunque se han informado métodos para el análisis de sólidos, está generalmente limitada a elementos en solución. Por lo tanto, para el análisis de metales totales en lodos y suelos se requiere una digestión previa de la muestra. (Wong, 2003).

Los límites de detección, la sensibilidad y los rangos óptimos para el análisis de los metales varían con las matrices y con los modelos de los espectrofotómetros de absorción atómica. Los límites de detección pueden disminuirse usando la técnica del horno de grafito o aumentarse usando una longitud de onda menos sensible o por rotación del mechero. Los límites de detección deben establecerse empíricamente para cada tipo de matriz analizada.

Pueden usarse, además del horno de grafito, procedimientos especiales como el método de la generación de hidruros para As y Se y la técnica del vapor frío para Hg. (EPA, 1998)

1.14.1. Interferencias.

- i. **Interferencia química:** “Es la más común, es cuando el elemento de interés se encuentra en combinación molecular con otros átomos y la llama no tiene el calor suficiente como para disociar la molécula”. (EPA, 1998).
- ii. **Interferencia por absorción no atómica:** Se debe a la presencia de altas concentraciones de sólidos disueltos en la muestra.

- iii. **Interferencia de ionización:** Se produce cuando la temperatura de la llama es lo suficientemente alta como para eliminar un electrón de un átomo neutro produciendo un ión cargado positivamente.
- iv. **Interferencia espectral:** Ocurre cuando la longitud de onda absorbente de un elemento presente en la muestra pero distinto al de interés.
- v. **Interferencia por viscosidad:** “Diferencias en la viscosidad que puedan alterar la velocidad de aspiración”. (EPA, 1998).
- vi. **Interferencia por inestabilidad de los elementos:** Los elementos no son igualmente estables en el digerido, especialmente si contiene solamente ácido nítrico. Por lo tanto, debe realizarse el análisis tan pronto como sea posible.

1.15. Problemática y situación actual de la contaminación de suelos por metales pesados

A través de la historia y especialmente a partir de la Revolución Industrial, los hombres han producido contaminantes muy peligrosos, los cuales han sido gradualmente depositados en el ambiente. Los elevados niveles de metales tóxicos no biodegradables, encontrados en sectores urbanos, son el resultado de una actividad antropogénica indiscriminada. (Alloway, 1995).

De acuerdo con el Plan Director para la Protección del Suelo se considera como suelo contaminado aquél que ha sufrido un cambio en sus características físicas, químicas o biológicas que por su naturaleza, dimensión o duración en el tiempo resulte incompatible con sus propiedades funcionales de uso o suponga una amenaza grave para la salud pública o el medio ambiente. Los metales pesados constituyen uno de los grupos de contaminantes ambientales sujetos a una mayor investigación y preocupación, fundamentalmente debido a su movilidad y a las bajas concentraciones a las que comienzan a manifestar sus efectos tóxicos. (Antonovics, Bradshaw, & Turner, 1971).

1.15.1. Problemática en el DMQ- parque zonal Puertas del Sol.

“La población en la ciudad de Quito es de 2.3 millones de habitantes, con una tasa de

crecimiento anual del 2,2%” según estadísticas del INEC, censo 2010.

En los últimos años ha existido un crecimiento poblacional acelerado, y económicamente esto ha generado varios problemas asociados al proceso de urbanización; como el surgimiento de asentamientos informales y la implantación de viviendas en zonas de riesgo lo cual trae consigo impactos ambientales, sobre todo en el suelo por la forma de disposición final de los residuos, estos no reciben un manejo y un tratamiento adecuado principalmente en algunas comunidades en donde estos desechos son arrojados a quebradas. (Castillo, 2010).

Ante este escenario, el gobierno local llevó a cabo una reorganización geográfica, administrativa de la ciudad, que fue plasmada en el Plan de Desarrollo del Distrito Metropolitano de Quito mediante un proyecto piloto. Esto se evidencio con el cierre técnico de la ex escombrera La Bota, misma que se implementó a través de un relleno sobre el cauce de la Quebrada Pucará Rumi, ubicada a lo largo de los barrios Puertas del Sol, Santo Domingo de Carretas y Puertas del Norte, parroquia Comité del Pueblo; el Municipio de Quito decidió construir el parque zonal Puertas del Sol, el cual fue diseñado sobre 11 hectáreas que resultaron de dicho relleno. (Adriano, 1986).

Al terminar la construcción del parque Puertas del Sol se quiso implementar una granja orgánica en el sitio, previo a ello, por tratarse de una ex escombrera, se realizaron análisis de contaminantes de suelo, básicamente metales pesados como: plomo y níquel; encontrándose niveles significativos de contaminación, motivo por el cual se decidió no implementar dicha granja en el sitio. (Prado, 2000)

1.16. Normativa

1.16.1. Legislación Nacional.

1. Constitución de la República del Ecuador

En la actual Constitución publicada en el Registro Oficial No. 449 del 20 de octubre de 2008, en los aspectos referentes a los aspectos del medio ambiente enuncian los siguientes aspectos principales, respecto al medio ambiente:

Art. 14: Se reconoce el derecho de la población a vivir en un ambiente sano y ecológicamente equilibrado, que garantice la sostenibilidad y el buen vivir, *sumak kawsay*.

Se declara de interés público la preservación del ambiente, la conservación de los ecosistemas, la biodiversidad y la integridad del patrimonio genético del país, la prevención del daño ambiental y la recuperación de los espacios naturales degradados.

Art. 15: El Estado promoverá, en el sector público y privado, el uso de tecnologías ambientalmente limpias y de energías alternativas no contaminantes y de bajo impacto. La soberanía energética no se alcanzará en detrimento de la soberanía alimentaria, ni afectará el derecho al agua.

Art. 32: La salud es un derecho que garantiza el Estado, cuya realización se vincula al ejercicio de otros derechos, entre ellos el derecho al agua, la alimentación, la educación, la cultura física, el trabajo, la seguridad social, los ambientes sanos y otros que sustentan el buen vivir.

Art. 66: Se reconoce y garantizará a las personas:

Numeral 25: El derecho a acceder a bienes y servicios públicos y privados de calidad, con eficiencia, eficacia y buen trato, así como a recibir información adecuada y veraz sobre su contenido y características.

Numeral 27: El derecho a vivir en un ambiente sano, ecológicamente equilibrado, libre de contaminación y en armonía con la naturaleza.

Art. 71: Toda persona, comunidad, pueblo, o nacionalidad podrá exigir a la autoridad pública el cumplimiento de los derechos de la naturaleza. Para aplicar e

interpretar estos derechos se observarán los principios establecidos en la Constitución, en lo que proceda.

El Estado incentivará a las personas naturales y jurídicas, y a los colectivos para que protejan la naturaleza, y promoverá el respeto a todos los elementos que forman un ecosistema.

Art. 72: La naturaleza tiene derecho a la restauración. Esta restauración será independiente de la obligación que tienen el Estado y las personas naturales o jurídicas de Indemnizar a los individuos y colectivos que dependan de los sistemas naturales afectados.

En los casos de impacto ambiental grave o permanente, incluidos los ocasionados por la explotación de los recursos naturales no renovables, el Estado establecerá los mecanismos más eficaces para alcanzar la restauración, y adoptará las medidas adecuadas para eliminar o mitigar las consecuencias ambientales nocivas.

Art. 74: Las personas, comunidades, pueblos y nacionalidades tendrán derecho a beneficiarse del ambiente y de las riquezas naturales que les permitan el buen vivir.

2. Código de la Salud

El **Art. 6:** determina que el saneamiento ambiental es el conjunto de actividades dedicadas a acondicionar y controlar el ambiente en que vive el hombre, a fin de proteger su salud. El código de salud entró en vigencia el 8 de febrero de 1971.

3. Ley de Prevención y Control de la Contaminación Ambiental

Disposición final de desechos industriales no biodegradables.

Art 15: El Ministerio del Ambiente regulará la disposición de los desechos provenientes de productos industriales que, por su naturaleza, no sean biodegradables, tales como plásticos, vidrios, aluminio y otros.

4. TULSMA

El TULSMA permite dirigir la gestión ambiental a nivel nacional, para lograr el uso sustentable y la conservación del capital natural del Ecuador, asegurar el derecho de sus habilidades a vivir en un ambiente sano y apoyar la competitividad del país.

Libro VI, Anexo 2 “Norma de calidad ambiental del recurso suelo y criterios de remediación para suelos contaminados”

1.16.2. Legislación Local.

1. Ordenanza Metropolitana No. 213

El trabajo de investigación está ubicado en la jurisdicción del Distrito Metropolitano de Quito y debe contemplar las responsabilidades a los que está sujeta de acuerdo a la Ordenanza No. 213 Sustitutiva del Título V, Libro Segundo, del Código Municipal, publicada el 10 de septiembre de 2007, que a continuación se describe:

- ✓ Capítulo I: De la Gestión de los Residuos Sólidos Urbanos, Domésticos, Comerciales, Industriales y Biológicos potencialmente infecciosos
- ✓ Capítulo VIII: Protección del Patrimonio Natural y Establecimiento del Subsistema de áreas naturales Protegidas del Distrito Metropolitano de Quito.

2. Ordenanza Metropolitana No. 0332

Gestión de los Residuos Sólidos Urbanos, Domésticos, Comerciales, Industriales y Biológicos potencialmente infecciosos

3. Norma Técnica del Suelo

Criterios de remediación o restauración de suelos agrícola, comercial, residencial e industrial.

CAPÍTULO 2

MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Zona de estudio

2.1.1. Localización geográfica.

La urbanización y el parque zonal Puertas del Sol, están ubicados en la provincia de Pichincha al norte de la ciudad de Quito- Ecuador, en la parroquia urbana Comité del Pueblo, perteneciendo a la Administración Zonal La Delicia (**véase figura 11**) sus límites son:

- Al norte: Escombrera de La Bota (sobre la antigua quebrada Pucará Rumi) y el barrio Carretas.
- Al sur: la quebrada Horinaza y el Comité del Pueblo.
- Al este: el barrio La Bota y Sierra Hermosa.
- Al oeste: el barrio La Cristianía.(Castillo, 2010)

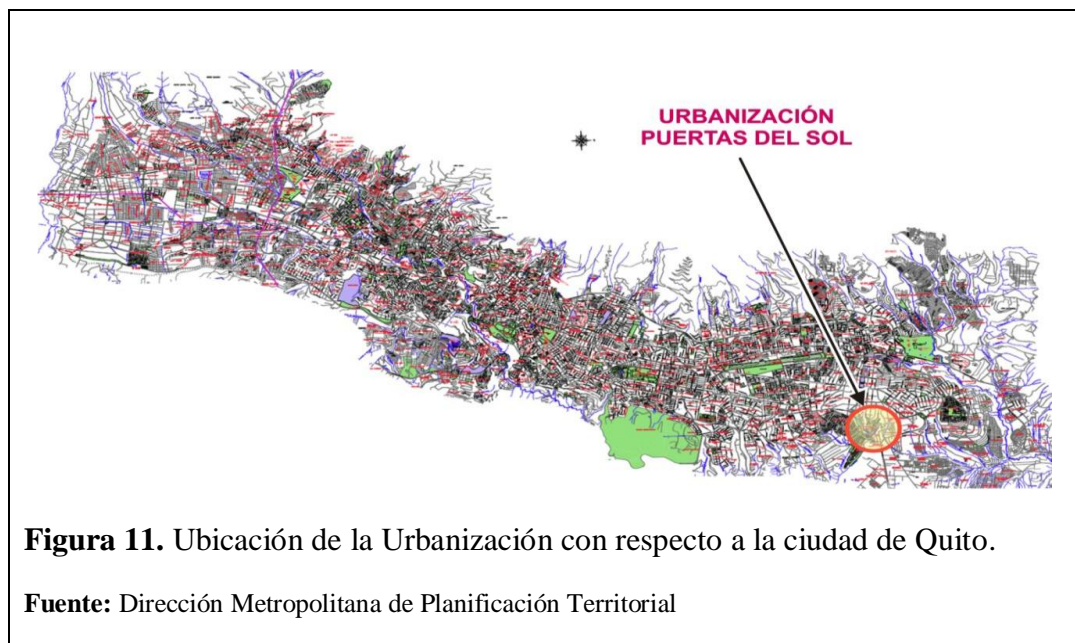


Figura 11. Ubicación de la Urbanización con respecto a la ciudad de Quito.

Fuente: Dirección Metropolitana de Planificación Territorial

El parque ecológico Puertas del Sol es de carácter metropolitano sobre la antigua escombrera, beneficiando así una población predominantemente de bajos recursos.

Con una extensión de 20 hectáreas, el relleno junto al barrio se convirtió en un espacio subutilizado por los habitantes del sector, a pesar de su avanzado estado de deterioro. La escombrera surge en momento en el que no existía el control respectivo por parte de las autoridades, lo que fue aprovechado por muchos para disponer ahí residuos de materiales de construcción. Posteriormente, el Municipio cerró técnicamente el relleno. Actualmente las plataformas del relleno fueron apropiadas por los habitantes de la zona y son utilizadas como parqueaderos, canchas deportivas y áreas de uso múltiple. (Castillo, 2010) (**véase figura 12**).

2.1.2. Clima y Meteorología.

Los valores de la precipitación media mensual se distribuyen principalmente en los meses de noviembre a mayo, disminuyendo en los meses restantes, los valores máximos o picos se observan comunes en los meses de abril y noviembre, los valores más altos se observan en el mes de abril con un pico de 194 mm/mes. El clima de la región es del tipo Ecuatorial Mesotérmico semi húmedo (EMsSH). (Castillo, 2010).

2.1.3. Temperatura.

La temperatura es en promedio de 17.04 °C, con valores máximos de 24 °C y mínimos de 7.08 °C. Los valores máximos, medios y mínimos se muestran sin mayor variación a lo largo del año.

Los valores máximos se registran generalmente en las primeras horas de la tarde y guardan relación con la presencia de nubes y viento; en cambio, los valores mínimos se obtienen en horas de la madrugada y depende también de la nubosidad presente. En noches despejadas la tierra pierde calor y se presentan las “heladas” especialmente en los meses de verano (julio y agosto). (Castillo, 2010).

2.1.4. Humedad.

La presencia de la humedad en el ambiente, da cuenta de la presencia de agua

en el entorno y se mide en porcentaje (%) y determina el clima en seco o húmedo.

De acuerdo a la información del PSA de la EMAAPQ, para la zona se tiene un valor medio de 71.08% de humedad promedio anual. La humedad del aire ambiente, está dado también por la época de lluvias, aumenta en los meses de octubre a mayo y baja en el verano. (Bautista, 1999).

2.1.5. Suelo.

- a) **Geomorfología:** El área de estudio específicamente pertenece a la hoya de Quito, ocupada por una serie de cuencas deprimidas intra-andinas, alargadas de norte a sur. Se trata de un graben o fosa de origen tectónico, rellenas por una alternancia de sedimentos fluvio-lacustre cuaternarios (areniscas, arenas, conglomerados, arcillas) y de origen volcánico (coladas de lavas, proyecciones piroclásticas, lahares, cenizas cementadas o cangagua).

Las acciones combinadas de la tectónica, del volcanismo andino y de los episodios sucesivos de relleno y erosión de estas cuencas han provocado la construcción de una serie de niveles escalonados de origen diverso, zona de estudio que correspondería a superficies de pendientes de relleno volcánico-lacustre. (Castillo, 2010).

- b) **Geología local:** La zona de estudio está dominada principalmente por un ambiente volcánico continental Cuaternario, proveniente de los centros volcánicos Ruco y Guagua Pichincha, Pululagua y Casitagua; y depósitos superficiales aluviales, coluviales y lacustres.

De acuerdo a la hoja geológica de Chaupicruz, escala 1:25.000 de la Dirección General de Geología y Minas, el área de estudio se localiza sobre la Formación Cangagua y subyacente se tiene los Volcánicos Machángara.

- c) **Fenómenos de geodinámica externa:** En el modelado o evolución de los relieves como es lógico suponerse, intervienen factores de carácter exógeno, al que se le debe añadir la intervención humana (recarga antrópica), los cuales generan cambios rápidos sobre el terreno.

El impacto antrópico en la zona es evidente, así lo demuestra los varios sitios donde se desaloja basura así como residuos de materiales de construcción y descarga de aguas residuales a lo largo de las quebradas sin nombre, especialmente en la cabeceras de las mismas. En este campo, un suceso que amerita relevarlo, es la eliminación del dren natural (quebrada Horinaza) debido a la expansión urbanista ocurrida en el sector. En la actualidad la Q. Pucará rumi actualmente parque Puertas del Sol no es posible observarla, pues el relieve original ha sido modificado por efectos del relleno con escombros. (Castillo, 2010).

2.1.6. Recurso agua.

Con respecto al recurso agua, se debe indicar que tanto la quebrada Horinaza como en la época que no estaba rellena la quebrada Pucará rumi, son quebradas secas, solamente en épocas de lluvia se observaba la presencia de agua, proveniente de la escorrentía de las partes altas.

Actualmente, la quebrada Horinaza recepta la descarga de aguas servidas de la parte norte del Comité del Pueblo, la Asociación Nueva Vida y de todo el sector de Puertas del Sol, por lo que escurre en el fondo de la misma un importante caudal de aguas servidas.(Duran, 2010).



Figura 12. Vista resaltada del área donde se desarrolló el estudio.

Fuente: Google Earth

2.1.7. Medio biótico.

El área en análisis, así como el entorno circundante se hallan intervenidos, dado que se halla rodeado de algunas urbanizaciones y barrios ya poblados. No se encuentra ubicada en las proximidades de ningún bosque protector o área protegida, situación que ratifica la total intervención en el área. Todavía hay presencia de vegetación natural, a pesar de que se observan botaderos de basura y escombros, descarga de aguas servidas, cultivos en las laderas y tala de árboles para construcción o leña (**véase figura 13**). La quebrada Pucara rumi, se encuentra totalmente rellena con escombros, e incluso se han construido canchas de futbol observándose una revegetación en las plataformas existentes. (Castillo, 2010).



Figura 13. Flora y Fauna del Parque zonal Puertas del Sol.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

a) Flora

Se observa en los alrededores la presencia de eucaliptos (*Eucalyptus globulus*), especie exótica que ha desplazado a la vegetación típica de la zona. Adicionalmente en los taludes se puede observar, sigse (*Cortaderia nítida*), hoja blanca (*Gynoxys sp.*), chilca (*Baccharis latifolium*), puma maqui (*Oreopanax sp.*), espino chiñan (*Barnadesia arborea*) higuilán (*Monnina obtusifolia*), calagualas (*Polipodium sp.*), guarango (*Mimosa quitensis*), angoyuyo (*Muehlenbeckiataminifolia*), shanshi (*Coriaria ruscifolia*), mora silvestre (*Rubus rubustus*), sachá manzana (*Hesperomeles ferruginea*), maygua (*Epidendrum jamiesonis*), taxo silvestre (*Passiflora sp.*) etc.

En la quebarada Pucará rumi, actualmente rellena por escombros, se observa la presencia de kikuyo (*Pennisetum clandestinum*) así como escasa gramíneas (poaceas) y algunos arbustos entre estos se observa, espuela casha (*Berberis pichinchensis*), espino chivo (*Durantatriacantha*) etc. (Castillo, 2010).

b) Fauna

En cuanto a fauna originaria de las quebradas, se considera mínima dado por el proceso de avance de la urbanización de la zona, se ha producido la deforestación, presencia de basurales, quema de vegetación de laderas y procesos erosivos.

Sin embargo, existen aves como: gallinazo negro (*Coragyps atratus*), tórtolas (*Zenaida auriculata*), mirlos (*Turdus fuscater*), gorriones (*Zonotrichia capensis*), y colibríes (*Colibrí coruscans*), quilicos (*Falco sparverius*). (Castillo, 2010).

2.2. Selección de especies vegetales utilizadas para la investigación

La selección de las especies para la investigación, se la hizo considerando especies que son parte de la zona donde se encuentra el parque zonal Puertas del Sol que son las especies nativas y las especies introducidas se las considero porque son parte del programa de reforestación a implementar a corto plazo, las especies seleccionadas no tenían ningún estudio previo donde se indique que son tolerantes a metales pesados en una zona como la ex escombrera.

Por lo tanto se seleccionó las especies forestales introducidas:

- Cepillo rojo (*Callistemon citrinus*)
- Molle (*Schinus areira*)





Y las especies vegetales nativas:

- Guarango (*Mimosa quitensis*)
- Chilca (*Baccharis latifolia*)

Las características comunes que tienen estas cuatro especies es que son resistentes a las condiciones ambientales y a las plagas por tanto se consideró opciones ideales para la presente investigación (**véase tabla 7**).

Se eligió plántulas en un rango promedio de 20 a 35 cm, las cuales fueron obtenidas del Vivero Plantar de la ciudad de Quito y de Viveros ubicados en Nayón.

Tabla 7. Especies vegetales elegidas.

Nombre	Figura
<p>Cepillo rojo (<i>Callistemon citrinus</i>)</p>	
<p>Molle (<i>Schinus areira</i>)</p>	
<p>Guarango (<i>Mimosa quitensis</i>)</p>	
<p>Chilca (<i>Baccharis latifolia</i>)</p>	

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

2.3. Construcción del lugar para trasplante de plántulas

Para trasplantar las plántulas se realizó primero una limpieza del lugar elegido; que fue un área de 108 m² (12 x 9) m, ubicada en la primera terraza del talud estabilizado del actual parque zonal Puertas del Sol. (véase figura 14).



Figura 14. Área elegida para el trasplante de especies vegetales.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

La limpieza constituyó en quitar la hierba mala del lugar, escombros y residuos para realizar el cercado y posterior trasplante, se trató en lo posible de dejar la tierra limpia.

Luego de haber realizado la limpieza del lugar se procedió a medir el área y a colocar estacas de madera de aproximadamente 1,60 m de altura con las cuales se realizó una cerca con alambre de púas. (véase figura 15).



Figura 15. Vista panorámica del proyecto de investigación.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

2.3.1. Distribución y cercado de las especies vegetales.

El área total de estudio consto de 12 unidades experimentales cada una de 9 m² (3mx3m), las cuales se dividieron con cuerda, a un metro de distancia cada planta. Se tenía una población total de 108 plantas las cuales constan de Cepillo Rojo, Molle, Guarango y Chilca; 27 individuos de cada especie fueron sembrados, utilizando el Diseño DBCA (Diseño de bloques completamente al azar) (**véase tabla 8**).

Tabla 8. DBCA utilizado en el proyecto.

DBCA				
B 1	T1	T3	T2	T4
B 2	T4	T2	T3	T1
B 3	T3	T1	T4	T2

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

B: Bloque

T: Tratamiento

T1: Cepillo Rojo (*Callistemon citrinus*)

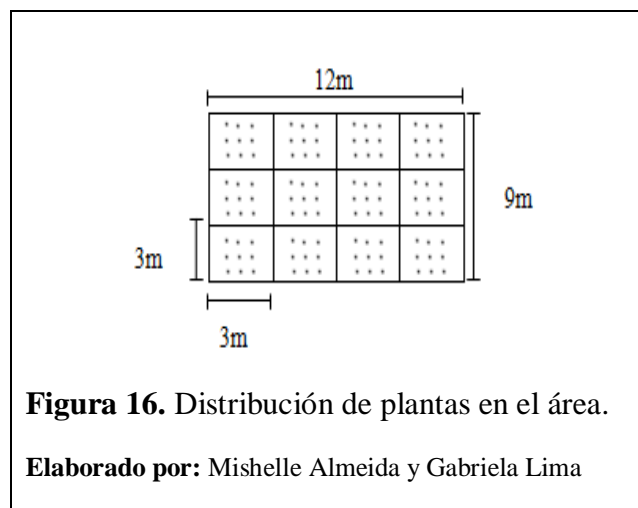
T2: Molle (*Schinus areira*)

T3: Guarango (*Mimosa quitensis*)

T4: Chilca (*Baccharis latifolia*)

Se procedió a dividir en 3 bloques. La posición de los bloques fue uno a continuación del otro en forma vertical. Cada bloque constó de cuatro unidades experimentales de cada especie vegetal. Para sembrar las especies se cabo un hoyo de (15x15x15) cm.

El área a utilizar fue distribuida de la siguiente manera: (**véase figura 16**)



2.3.2. Identificación y mantenimiento de las especies vegetales.

Posterior a la distribución de las plantas en el suelo contaminado, se realizó la identificación mediante rótulos de colores morado, verde y naranja que identifican a los bloques 1, 2 y 3 respectivamente y se colocó un rotulo donde se identifica el proyecto de investigación (**véase figura 17**).

El mantenimiento consistió en riego durante los 2 primeros meses pasando un día y el resto del tiempo dos veces a la semana (**véase figura 18**).

Se colocó estacas en cada planta lo cual sirvió de sostén durante el tiempo de investigación.

Se tomó la altura de cada planta una vez a la semana y se monitoreo las especies durante su crecimiento para determinar individuos vivos, vivos en mal estado y muertos.

Para cuantificar la mortalidad se procedió a calcular el porcentaje de plantas vivas, vivas en mal estado y muertas que se obtuvieron al final de la investigación, contando con los resultados del monitoreo una vez a la semana de todas y cada una de las plantas. (**Anexo 2**). Se las definió como vivas a las plantas que no tuvieron ningún cambio en su morfología vegetal, vivas en mal estado aquellas que tuvieron leves cambios en el color de sus hojas y caída de las mismas, sin embargo durante el estudio su crecimiento y brotes de hojas nuevas continuaban su desarrollo. Por último se tomó como muertas a las que se observaron solo como tallo marchito.



Figura 17. Identificación de bloques y tratamientos.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima



Figura 18. Riego y mantenimiento.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

2.4. Materiales

Tabla 9. Materiales, equipos y reactivos usados.

Materiales		Equipos	
Pala		Balanza	
Azadón		Espectrofotómetro	
Fundas ziploc		Microondas para Digestión	
Tamices		Agitador eléctrico	
Baldes		Mufla	
Molino manual		Estufa	
		pHmetro	
Reactivos			
Ácido Nítrico			
Ácido Clorhídrico			

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

2.5. Métodos

2.5.1 Análisis de metales pesados (Pb y Ni) en el suelo.

2.5.1.1 Muestreo de suelo.

Los sitios de muestreo se seleccionaron al azar en cada unidad experimental, dando un total de 12 muestras compuestas.

“El suelo de la zona de estudio se caracteriza por ser franco arcillo arenosos, los suelos francos están definidos por una mezcla de arena, limo y arcilla”. (Bech, 2002).

El muestreo se realizó tomando 4 muestras simples en cada unidad experimental a una profundidad de 20 cm (**véase figura 19**). Una vez tomada las muestras simples se obtuvieron muestras compuestas utilizando el método de cuarteo descrito en el TULAS Libro VI Anexo 2, para ser colocadas en bolsas de plástico con capacidad de un kilogramo cada una, para posteriormente ser analizadas en laboratorio.



Figura 19. Toma muestra de suelo.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Las muestras obtenidas se llevaron al laboratorio CIVABI-UPS, Campus Sur, para determinar concentración de metales pesados por espectrofotometría de absorción atómica. Así mismo se obtuvo una muestra compuesta de 4 submuestras de toda la zona de estudio para la determinación de pH, carbonatos y materia orgánica en la zona.

Se obtuvo una muestra inicial de suelo de cada unidad experimental, la determinación de la concentración de plomo y níquel en el suelo se realizó de acuerdo al método espectrofotómetro para ser comparado con lo establecido en la tabla 2 de LMP de Calidad de suelo del Libro VI anexo 2 TULAS. Además del uso de metodologías para la determinación de pH, materia orgánica; características importantes del suelo que indican el mecanismo de transporte del metal en el mismo.

2.5.2. Metodología empleada para el análisis químico del suelo.

pH: La determinación del potencial hidrógeno se realizó de acuerdo a lo establecido en la norma ISO 10390. 1994. SOIL QUALITY. Se pesaron 20 g de suelo previamente seco y tamizado (2mm, de acuerdo a lo establecido en la norma INEN 154) en un vaso de precipitación y se adicionaron 50 ml de agua millipore. La muestra se llevó a un agitador mecánico por 5 min dejando reposar por 3 min (**véase figura 20**). Posteriormente se tomó la lectura de la muestra en el pH metro, el cual se obtuvo como respuesta 6,09.



Figura 20. Muestra de suelo en agitador mecánico.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Materia Orgánica y carbonatos: La determinación de materia orgánica se realizó de acuerdo a lo establecido en la norma TMECC Method 05.07. 2001. ORGANIC MATTER, por el método Walkey-black. Previo a la determinación de materia orgánica se detectó la presencia de carbonatos agregando gotas de ácido clorhídrico a una porción de la muestra seca de suelo. Las muestras de suelo libre de materiales inertes y de carbonatos se calcinaron a 550°C (véase **figura 21**). Finalmente se realizaron los cálculos correspondientes para determinar el porcentaje de materia orgánica en el suelo, dando como resultado 4% de materia orgánica.



Figura 21. Calcinación de la muestra de suelo.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

2.5.3. Metodología empleada para la cuantificación de la concentración de plomo y níquel en suelo.

La determinación de la concentración de plomo y níquel en las 12 muestras de suelo se realizó de acuerdo a la siguiente metodología:

- a) Tratamiento preliminar del suelo
- b) Digestión ácida del suelo
- c) Determinación de plomo y níquel por espectrofotometría de absorción atómica

a) Tratamiento preliminar del suelo

Las 12 muestras compuestas de suelo tomadas en el campo fueron llevadas al laboratorio CIVABI-UPS, Campus Sur, para ser preparadas de acuerdo a lo establecido en la norma INEN 0688. (véase figura 22).

Se inició con la disgregación de terrones y la eliminación de piedras y residuos vegetales en el suelo. Posteriormente se mezcló y pesó 500g de suelo y fueron llevadas a secar en la estufa a 40°C por 24 horas. Finalmente el suelo seco se tamizó por 2mm y se pesó 10g para ser tamizar a menor 0.5mm, el residuo tamizado estuvo listo para ser llevado a la digestión ácida. (véase figura 23).



Figura 22. Muestras llevadas al laboratorio.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima



Figura 23. Tamizado de muestras secas y listas para la digestión.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

b) Digestión acida en microondas

Se pesó 3g de suelo seco de cada muestra en un vaso de precipitación dentro de una balanza analítica marca METTLER TOLEDO para ser colocados en el vaso de digestión. (véase figura 24)



Figura 24. Pesaje de muestra de suelo seco en balanza analítica.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Posteriormente se añadió 10 ml de agua regia, se mezcló y se dejó reposar por 15 minutos aproximadamente (véase figura 25). A continuación se introdujo los vasos en el digestor por microondas marca BERGHOF modelo MWS-2 (Anexo 5) y se procedió a realizar la digestión con un método modificado de BERGHOF (Anexo 6) para suelo seco.

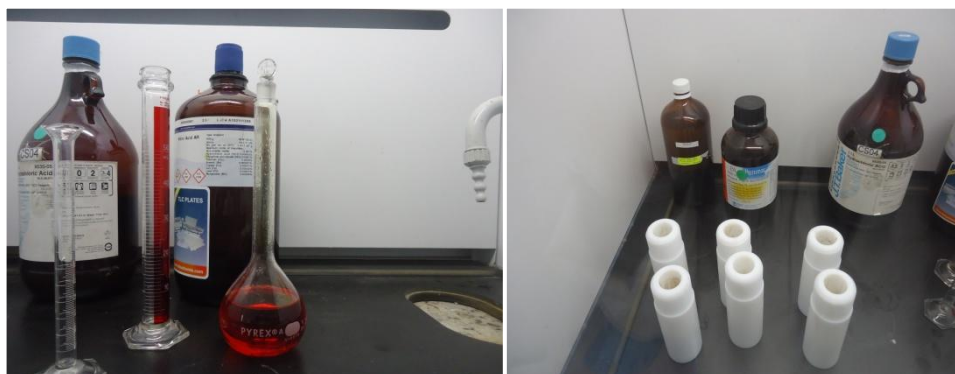


Figura 25. Adición de agua regia a la muestra de suelo seco.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Finalmente, una vez enfriados los vasos de digestión se pasó el contenido en filtros millipore y se vertió en un balón de cristal con tapa para su aforo a 100 ml con agua millipore. (véase figura 26).

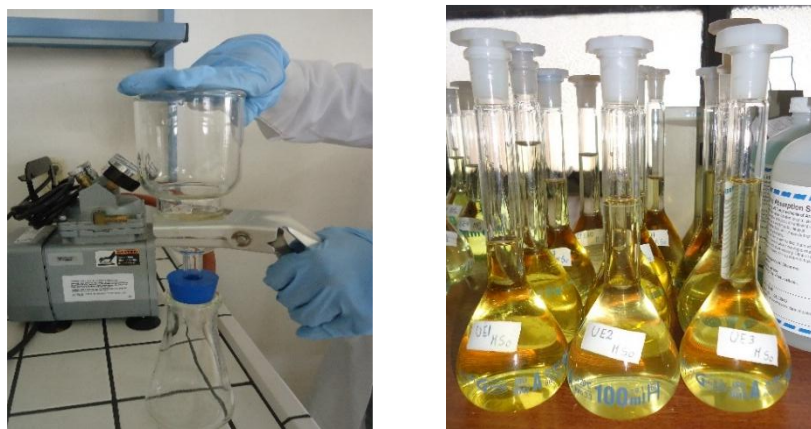


Figura 26. Filtración en millipore de la muestra digestionada de suelo y aforada a 100 ml.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

c) Determinación de plomo y níquel por espectrofotometría de absorción atómica

El análisis y cuantificación de Pb y Ni se realizó por el método espectrofotométrico, utilizando el espectrofotómetro de absorción atómica (EAA) de aspiración directa

marca VARIAN (**Anexo 8**) usando flama de aire-acetileno, lámpara de Pb y lámpara de Ni.

A partir de la solución Stock estandarizada se prepararon soluciones de Pb y Ni en un intervalo de concentraciones de 0,1-30 ppm y 0,1-20 ppm respectivamente. Se procedió a calibrar el equipo con las soluciones estándares, para finalizar con las lecturas de las muestras de suelo preparadas (**véase figura 27**). Una vez obtenido los resultados de la cuantificación de plomo y níquel en el suelo se observó la presencia de metales en el suelo en diferentes concentraciones (**Anexo 1**).



Figura 27. Lectura de muestras de suelo con estándares.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

2.6. Análisis de metales pesados (Pb y Ni) en plantas

2.6.1. Muestreo de plantas.

Para la selección de las muestras de plantas se tomó la primera muestra al mes y medio de haber realizado el trasplante.

La muestra constó de 2 plantas de cada unidad experimental, así fue cada mes y medio durante cuatro meses y medio, finalmente obtuvimos 3 repeticiones.

Las muestras se retiraron manualmente con el menor sustrato posible, se cabo 20 cm del suelo para poder sacar la muestra y se colocó en bolsas ziploc con la correspondiente identificación (**véase figura 28**).



Figura 28. Muestras de plantas.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

2.6.2. Metodología empleada para la cuantificación de la concentración de plomo y níquel en plantas.

La determinación de la concentración de plomo y níquel en las 12 muestras de plantas se realizó de acuerdo a la siguiente metodología:

- a) Tratamiento preliminar de la planta
- b) Digestión ácida de la planta
- c) Determinación de plomo y níquel por espectrofotometría de absorción atómica

a) Tratamiento preliminar de la planta

Las 12 muestras de plantas tomadas en el campo fueron llevadas al laboratorio CIVABI-UPS, Campus Sur, para ser preparadas.

Ya obtenidas las muestras se las llevó al laboratorio y se las refrigeró a 4°C antes de ser utilizadas para preservarlas mejor.

Para este procedimiento inicial lo que se hizo primero fue:

Lavar las muestras con agua regular con énfasis en el sistema radicular ya que en las raíces tenían restos de sustrato. Luego se procedió a cortar las plantas en pedazos uniformes para pesarlas y colocarlas dentro de la estufa (véase figura 29).



Figura 29. Pesado de muestras y corte.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En seguida se colocaron las 12 muestras de plantas dentro de la estufa a una temperatura de 70 ° C durante 24 horas (**véase figura 30**).



Figura 30. Colocación de muestras en la estufa.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Al retirar las muestras de la estufa, se obtuvo el peso de las muestras, el peso obtenido después es lo que se denomina peso seco.

Posteriormente lo que se hizo fue moler las muestras, en un molino manual.

Para finalmente tamizar las muestras en tamiz de 2mm y luego en uno de 0,5 mm, así se obtuvo un polvo fino el cual sirvió para la fase siguiente. (Comisión de Normalización y acreditación, 2007) (**véase figura 31**).



Figura 31. Tamizaje de muestras.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

b) Digestión acida en microondas

Se pesó 300 mg del polvo obtenido de cada muestra en un vaso de precipitación dentro de una balanza analítica marca METTTLER TOLEDO para ser colocados en el vaso de digestión.

Posteriormente se añadió 5 ml de ácido nítrico, se mezcló y se dejó reposar por 20 minutos aproximadamente (**véase figura 32**). A continuación se introdujo los vasos en el digestor por microondas marca BERGHOF modelo MWS-2 (**Anexo 5**) y se procedió a realizar la digestión con un método modificado de BERGHOF (**Anexo 7**) para plantas secas.

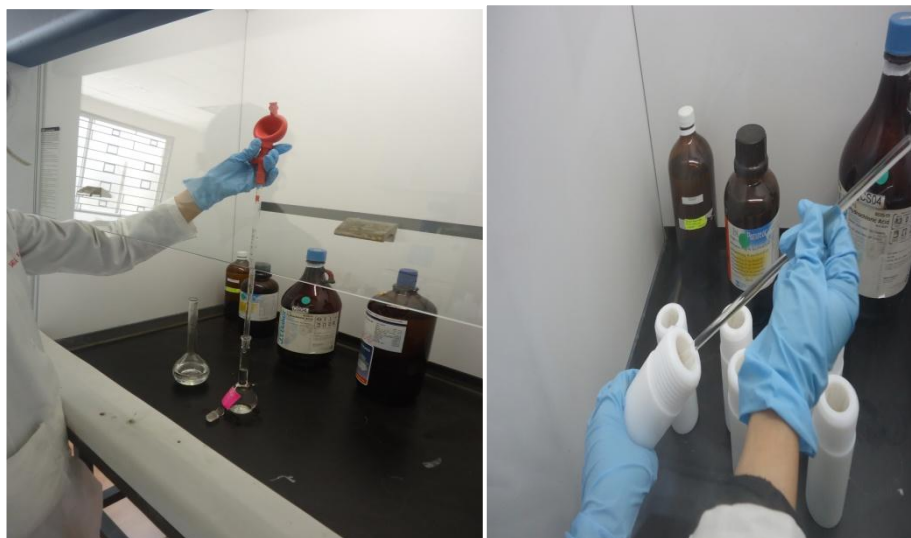


Figura 32. Colocación de ácido nítrico en vasos digestores.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Finalmente, una vez enfriados los vasos de digestión las muestras se pasaron por filtros millipore y se vertieron en un balones de cristal con tapa para su aforo a 100 ml con agua millipore (véase **figura 33**).



Figura 33. Muestras de plantas aforadas.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

c) Determinación de plomo y níquel en plantas por espectrofotometría de absorción atómica

El análisis y cuantificación de Pb y Ni se realizó por el método espectrofotométrico, utilizando el espectrofotómetro de absorción atómica (EAA) de aspiración directa marca VARIAN (**Anexo 8**) usando flama de aire-acetileno, lámpara de Pb y lámpara de Ni.

A partir de la solución Stock estandarizada se prepararon diluciones de Pb y Ni en un intervalo de concentraciones de 0,1-30 ppm y 0,1-20 ppm respectivamente (**véase figura 34**). Se procedió a calibrar el equipo con las soluciones estándares, para finalizar con las lecturas de las muestras de plantas preparadas. Una vez obtenido los resultados de la cuantificación de plomo y níquel en las plantas se observó la presencia de metales en las muestras de plantas en diferentes concentraciones, diferenciadas por el tiempo de toma de muestra y la especie a la que pertenece. (**Anexo 9**)



Figura 34. Estándares de Pb y Ni y medición de concentración.

Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

2.7. Cálculos para preparación de ácidos

2.7.1. Preparación de ácidos para digestión de muestras de suelo.

Para el cálculo de la cantidad de agua regia se procedió primero a calcular el ácido nítrico HNO_3 al 65% ya que en el laboratorio se cuanta con este ácido pero al 69%.

Por lo cual se realizó el siguiente cálculo:

$$C1. V1 = C2 .V2$$

$$69 \% . V1 = 65 \% (100 \text{ ml})$$

$$V1 = 94,202 \text{ ml el cual se afora a } 100 \text{ ml con agua millipore}$$

Dónde: V = volumen

C= concentración

Para la preparación del agua regia se procedió a hacer la mezcla de HNO_3 al 65% con HCl al 37% en proporción de (1:3).

2.7.2. Preparación de ácidos para digestión de muestras de plantas.

Se procedió a realizar el mismo cálculo para el ácido nítrico HNO_3 al 65%, donde se obtuvo $V1 = 94,202 \text{ ml}$ y se aforó a 100 ml con agua millipore.

2.8. Cálculos estadísticos

Todos los resultados fueron analizados usando Correlación Lineal utilizando el complemento de Excel llamado MegaStat (versión 2007), pruebas de ADEVA, coeficiente de variación, y un posterior análisis de TUKEY usando el programa InfoStat (versión 2011) a un nivel de significancia $p < 0.05$ y teniendo en cuenta los valores de F tabulados.

CAPÍTULO 3

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Mortalidad al final de la investigación

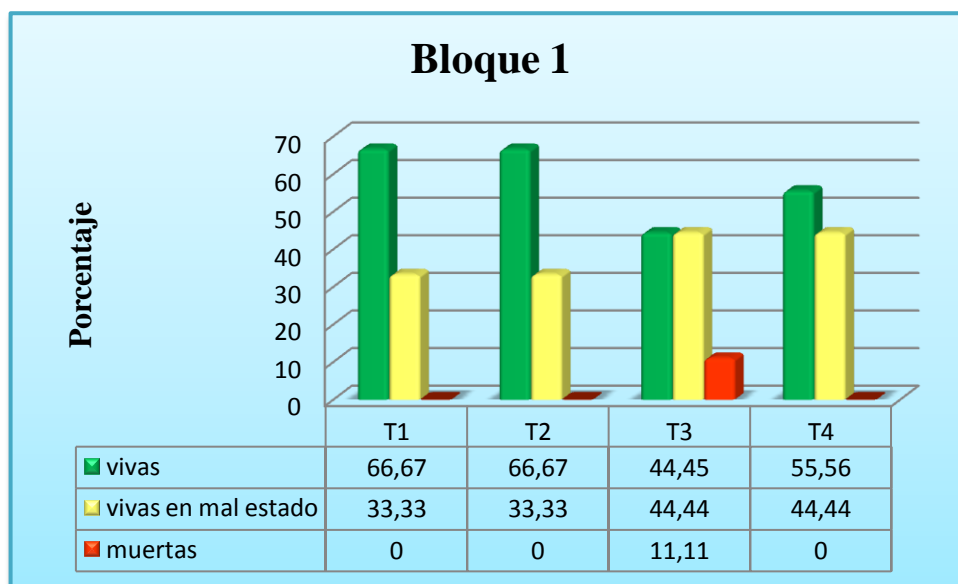


Figura 35. Porcentaje de plantas vivas, vivas en mal estado y muertas del bloque 1.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

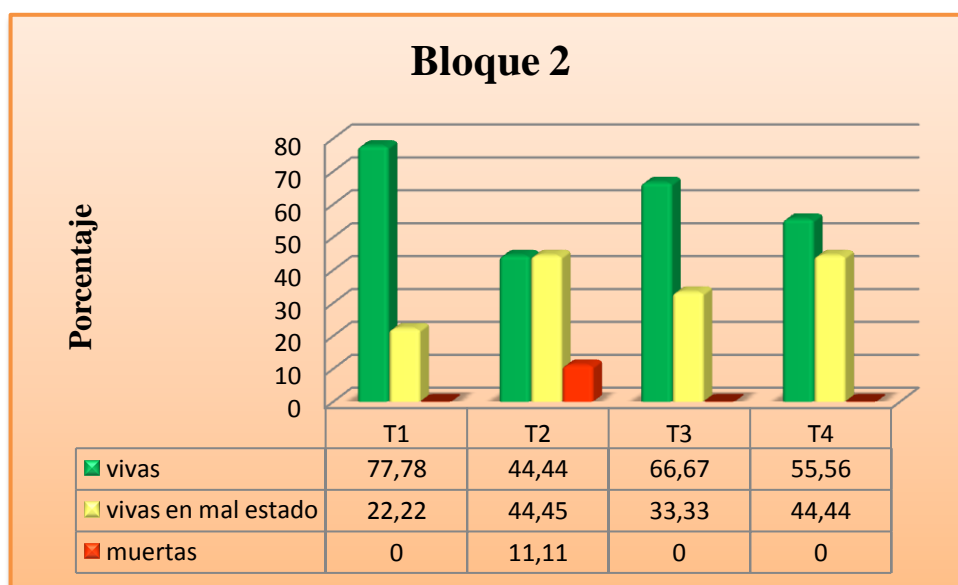


Figura 36. Porcentaje de plantas vivas, vivas en mal estado y muertas del bloque 2

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

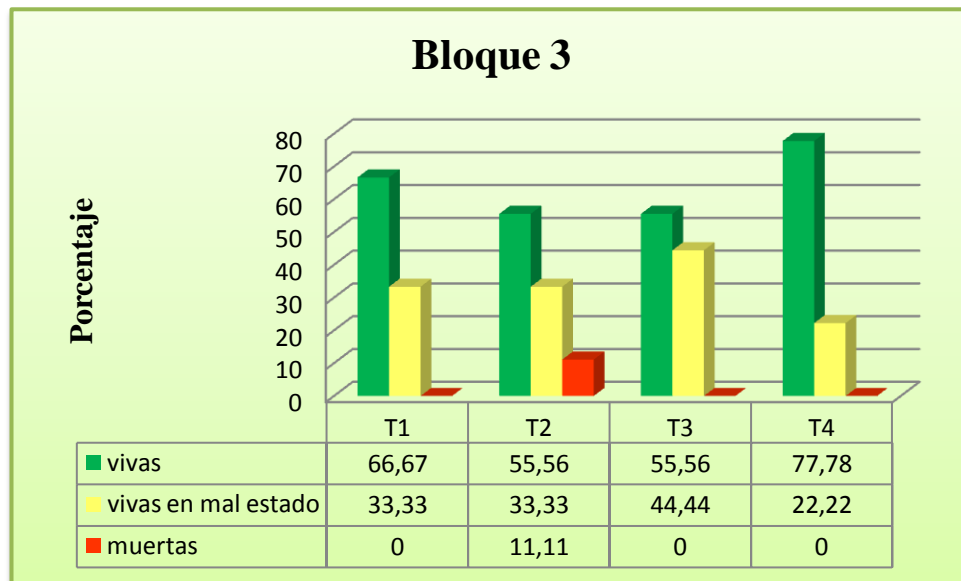


Figura 37. Porcentaje de plantas vivas, vivas en mal estado y muertas del bloque 3

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En las figuras 35,36 y 37 indica que aproximadamente el 90 % son plantas vivas de las cuales aproximadamente un 30% son plantas vivas en mal estado que afortunadamente continúan en crecimiento, sin embargo existe aproximadamente un 10% de plantas muertas, específicamente 3 plantas son las que murieron, una en cada bloque o repetición.

3.2. Correlación lineal entre pesos, altura vs concentración de Ni y Pb

Para realizar la correlación lineal se analizaron algunos diagramas de dispersión con los datos de altura y peso (**Anexo 3**) y (**Anexo4**).

3.2.1. Correlación lineal entre peso versus concentración de Ni y Pb.

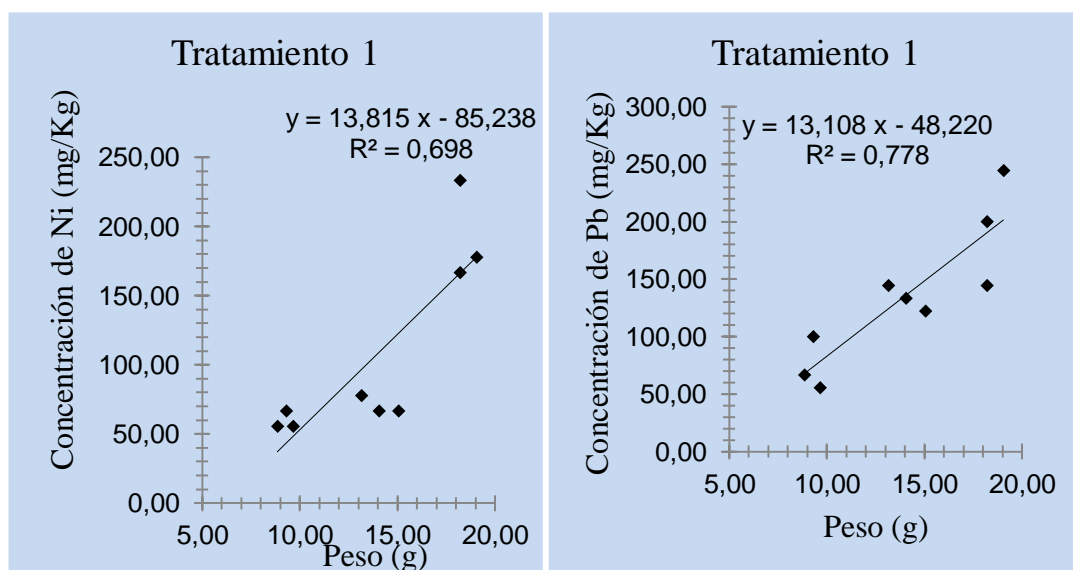


Figura 38. Correlación peso para tratamiento 1.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

El análisis refleja una correlación lineal positiva alta (**véase figura 38**), donde los coeficientes de determinación obtenidos se observa que el 70 y 78% del cambio observado en la concentración de Ni y Pb respectivamente depende de la variación del peso.

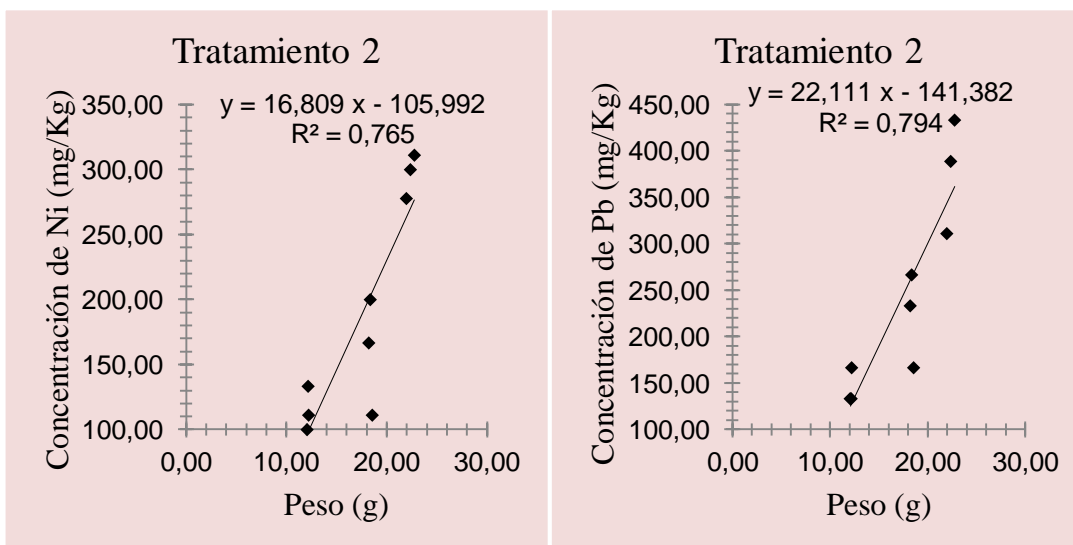
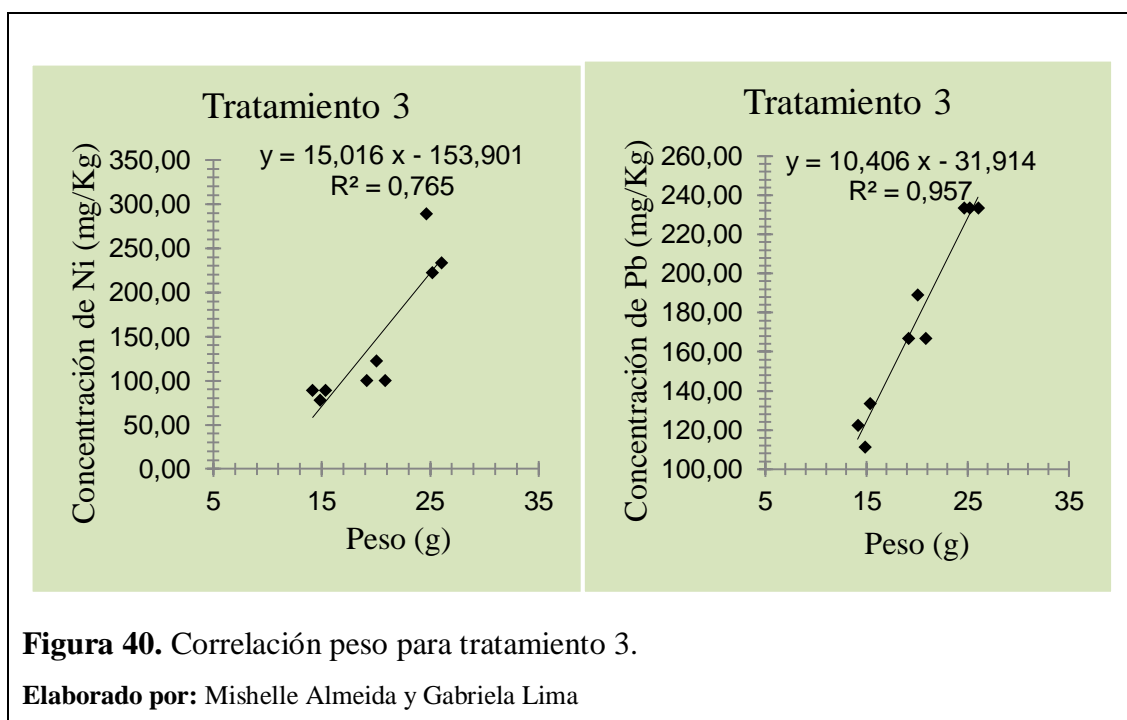


Figura 39. Correlación peso para tratamiento 2.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

El análisis refleja una correlación lineal positiva alta (**véase figura 39**), donde los coeficientes de determinación obtenidos, se observa que el 77% y el 80% del cambio observado en la concentración de Ni y Pb respectivamente depende de la variación del peso.



El análisis refleja una correlación lineal positiva alta (**véase figura 40**), donde los coeficientes de determinación obtenidos, se observa que el 77% y el 96% del cambio observado en la concentración de Ni y Pb respectivamente depende de la variación del peso.

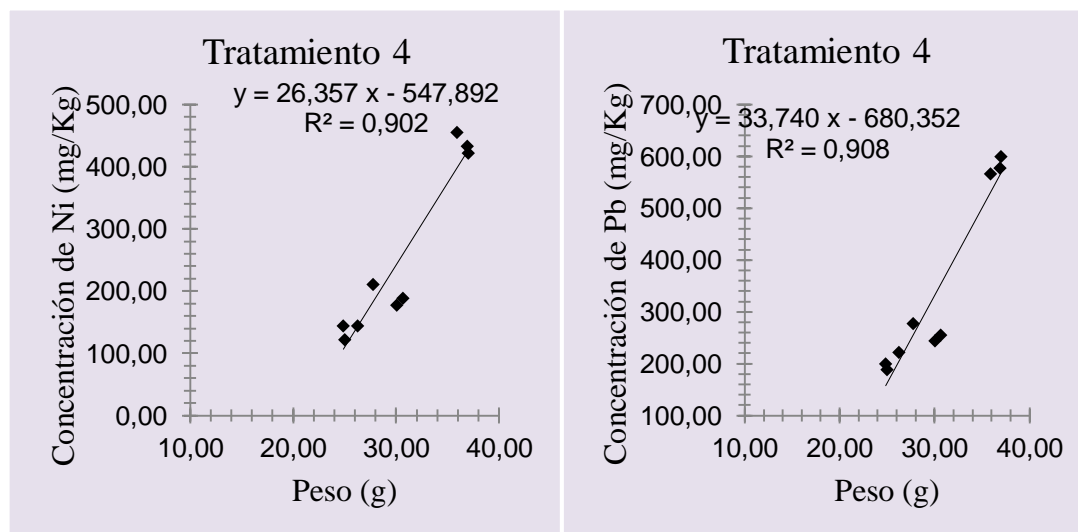


Figura 41. Correlación peso para tratamiento 4.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

El análisis refleja una correlación lineal positiva alta (**véase figura 41**), donde los coeficientes de determinación obtenidos, se observa que el 90% y el 91% del cambio observado en la concentración de Ni y Pb respectivamente depende de la variación del peso.

3.2.2. Correlación lineal entre altura versus concentración de Ni y Pb.

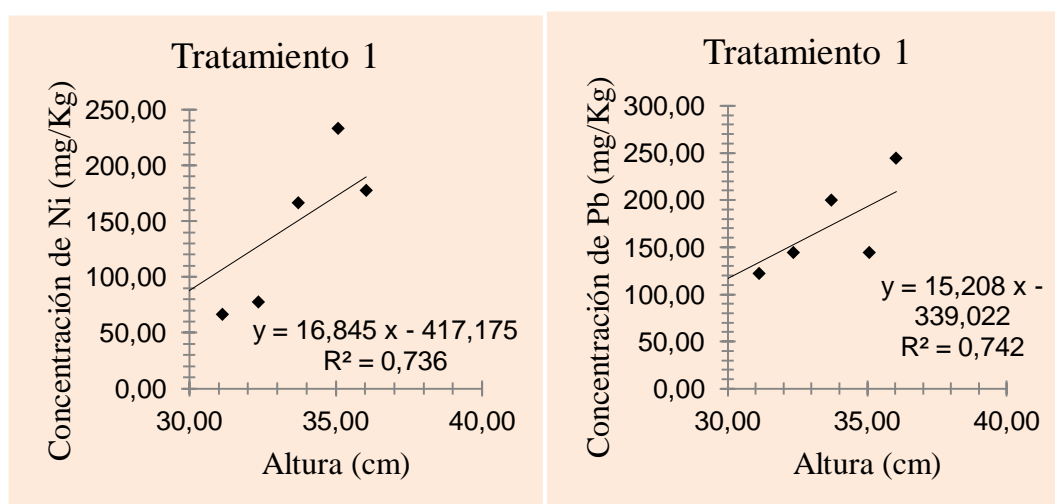


Figura 42. Correlación altura para tratamiento 1.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

El análisis refleja una correlación lineal positiva alta (**véase figura 42**), donde los coeficientes de determinación obtenidos, se observa que el 74% y el 74% del cambio observado en la concentración de Ni y Pb respectivamente depende de la variación del peso.

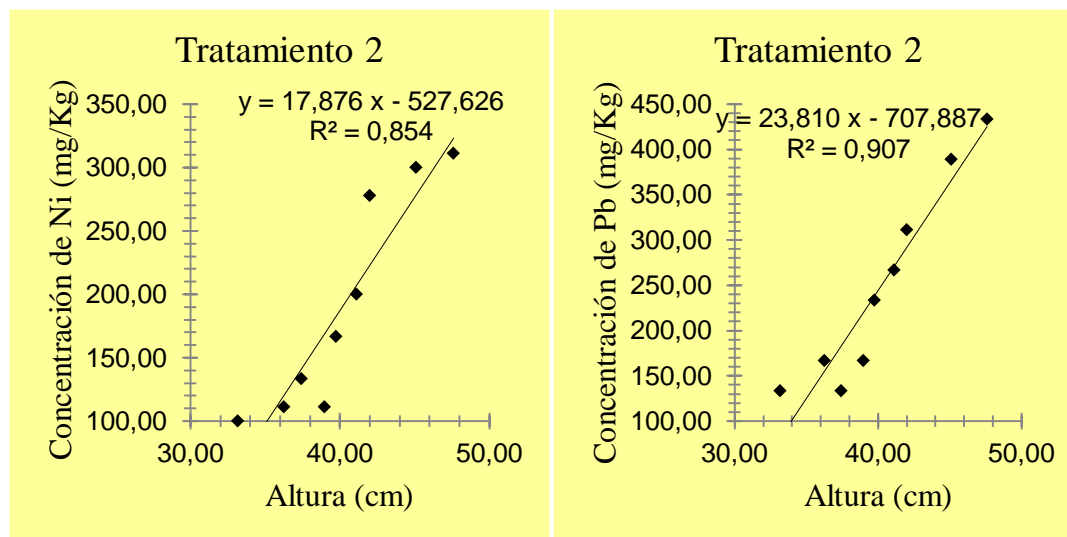


Figura 43. Correlación altura para tratamiento 2.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

El análisis refleja una correlación lineal positiva alta (**véase figura 43**), donde los coeficientes de determinación obtenidos, se observa que el 85% y el 91% del cambio observado en la concentración de Ni y Pb respectivamente depende de la variación del peso.

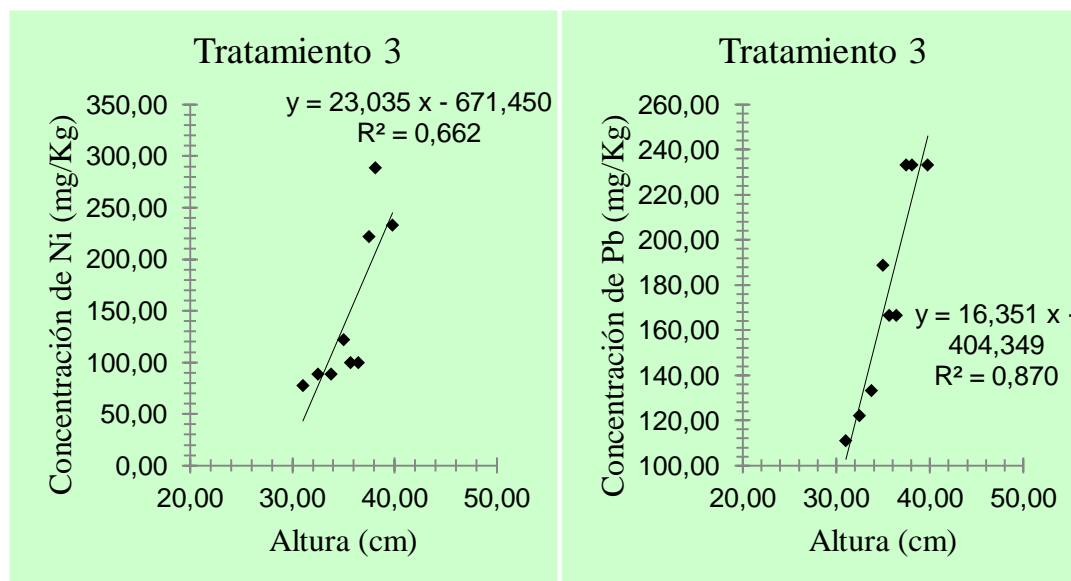


Figura 44. Correlación altura para tratamiento 3.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima.

El análisis refleja una correlación lineal positiva moderada y alta respectivamente (véase figura 44), donde, se observa que el 66% y el 87% del cambio observado en la concentración de Ni y Pb respectivamente depende de la variación del peso.

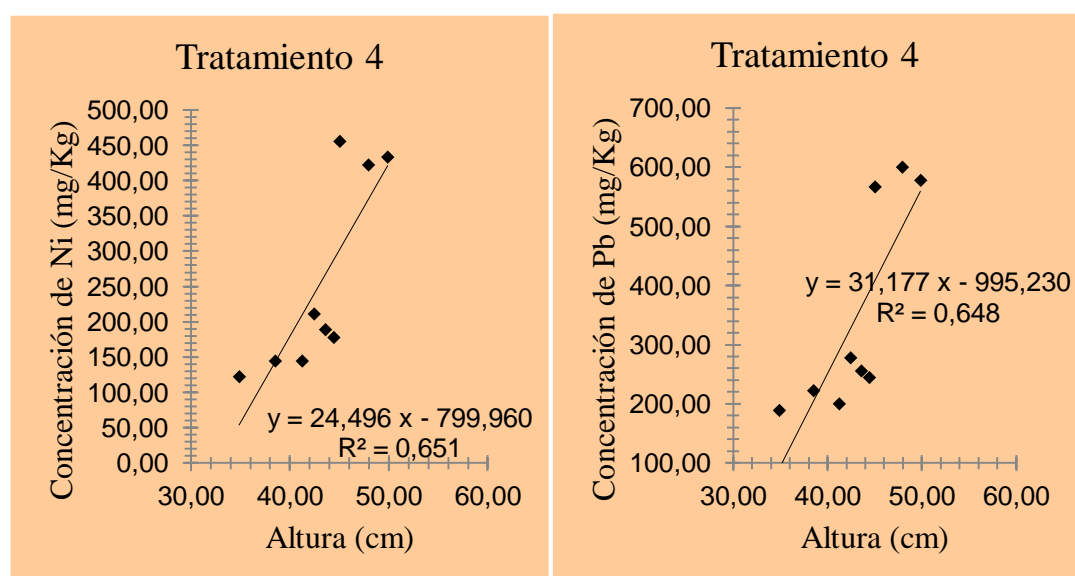


Figura 45. Correlación altura para tratamiento 4.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

El análisis refleja una correlación lineal positiva moderada (**véase figura 45**), donde los coeficientes de determinación obtenidos, se observa que el 65% y el 64% del cambio observado en la concentración de Ni y Pb respectivamente depende de la variación del peso.

3.3. Análisis de varianza (ADEVA) para concentración de Pb y Ni en plantas

3.3.1. Concentración de Ni.

Tabla 10. ADEVA 1ra muestra 45 días para concentración de Ni en plantas.

FV	S.C	g.l.	C.M	F	F (5%)	F (1%)
Tratamientos	10401,23	3	3467,08	48,14**	4,76	9,78
Repeticiones	637,86	2	318,93	4,43 ^{NS}	5,14	10,93
Error	432,10	6	72,02			
Total	11471,19	11				

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En la primera evaluación a los 45 días (**véase tabla 10**) para el análisis de concentración de Ni se obtuvo alta significancia estadística para tratamientos, y no significancia estadística para repeticiones, con un coeficiente de variación de 8,56% lo cual da confiabilidad a los resultados obtenidos.

Test: Tukey		Alfa=0,05				
Error: 71,8725		gl: 6				
Tratamientos	Medias	n	E.E.			
4	137,00	3	4,89	A		
2	114,80	3	4,89	A		
3	85,20	3	4,89		B	
1	59,30	3	4,89			C

Figura 46. Prueba de Tukey 1ra muestra 45 días para concentración de Ni en plantas.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En la primera evaluación a los 45 días (**véase figura 46**) para el análisis de concentración de Ni se obtuvo un valor máximo en el tratamiento número 2 y 4 los

cuales comparten un rango con valores de 114.800 y 137.00 mg/kg respectivamente; y un valor mínimo del tratamiento 1 con 59.30 mg/kg.

Tabla 11. ADEVA 2da muestra 90 días para concentración de Ni en plantas.

FV	S.C	g.l	C.M	F	F (5%)	F (1%)
Tratamientos	26450,62	3	8816,87	11,13**	4,76	9,78
Repeticiones	267,49	2	133,74	0,17 ^{NS}	5,14	10,93
Error	4753,09	6	792,18			
Total	31471,19	11				

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En la segunda evaluación a los 90 días (véase **tabla 11**) para el análisis de concentración de Ni se obtuvo alta significancia estadística para tratamientos, y no significancia estadística para repeticiones, con un coeficiente de variación de 21,25% lo cual da confiabilidad a los resultados obtenidos.

Test: Tukey		Alfa=0,05				
Error: 792,0475		gl: 6				
Tratamientos	Medias	n	E.E.			
4	192,60	3	16,25	A		
2	159,27	3	16,25	A B		
3	107,40	3	16,25		B C	
1	70,40	3	16,25			C

Figura 47. Prueba de Tukey 2da muestra 90 días para concentración de Ni en plantas.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En la segunda evaluación a los 90 días (véase **figura 47**) para el análisis de concentración de Ni se obtuvo un valor máximo en el tratamiento número 2 y 4 los cuales se comparten un rango con valores de 159.27 y 192.60 mg/kg respectivamente; y un valor mínimo del tratamiento 1 con 59.30 mg/kg.

Tabla 12. ADEVA 3ra muestra 135 días para concentración de Ni en plantas.

FV	S.C	g.l	C.M	F	F (5%)	F (1%)
Tratamientos	98549,38	3	32849,79	46,28**	4,76	9,78
Repeticiones	1995,88	2	997,94	1,41 ^{NS}	5,14	10,93
Error	4259,26	6	709,88			
Total	104804,53	11				

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En la tercera evaluación a los 135 días (**véase tabla 12**) para el análisis de concentración de Ni se obtuvo alta significancia estadística para tratamientos, y no significancia estadística para repeticiones, con un coeficiente de variación de 9,08% lo cual da confiabilidad a los resultados obtenidos.

Test: Tukey		Alfa=0,05			
Error: 710,2786		gl: 6			
Tratamientos	Medias	n	E.E.		
4	437,03	3	15,39	A	
2	296,3	3	15,39		B
3	248,13	3	15,39	B	C
1	192,60	3	15,39		C

Figura 48. Prueba de Tukey 3ra muestra 135 días para concentración de Ni en plantas

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En la tercera evaluación a los 135 días (**véase figura 48**) para el análisis de concentración de Ni se obtuvo un valor máximo en el tratamiento número 4 con un valores de 437.03 mg/kg y un valor mínimo del tratamiento 1 con 192.60 mg/kg.

3.3.2. Concentración de Pb.

Tabla 13. ADEVA 1ra muestra 45 días para concentración de Pb en plantas.

F.V	S.C.	g.l.	C.M.	F	F (5%)	F (1%)
Tratamientos	26039,09	3	8679,70	57,52**	4,76	9,78
Repeticiones	1728,40	2	864,20	5,73*	5,14	10,93
Error	905,35	6	150,89			
Total	28672,84	11				

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En la primera evaluación a los 45 días (**véase tabla 13**) para el análisis de concentración de Pb se obtuvo alta significancia estadística para tratamientos, y significancia estadística para repeticiones, con un coeficiente de variación de 9,02% lo cual da confiabilidad a los resultados obtenidos.

Test: Tukey		Alfa=0,05			
Error: 150,8800		gl: 6			
Tratamientos	Medias	n	E.E.		
4	203,7	3	7,09	A	
2	144,44	3	7,09		B
3	122,22	3	7,09		B
1	74,08	3	7,09		C
Test: Tukey		Alfa=0,05			
Error: 150,8800		gl: 6			
Repeticiones	Medias	n	E.E.		
2	152,78	4	6,14	A	
3	130,56	4	6,14	A	B
1	125	4	6,14		B

Figura 49. Prueba de Tukey 1ra muestra 45 días para concentración de Pb en plantas.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En la primera evaluación a los 45 días (**véase figura 49**) para el análisis de concentración de Pb se obtuvo un valor máximo en el tratamiento número 4 con valores de 203.70 mg/kg y un valor mínimo del tratamiento 1 con 74.08 mg/kg.

Al mismo tiempo se puede identificar que en las 3 repeticiones son significativas, dando valores máximos en la repetición número 2 con 152.78 mg/kg, y un valor mínimo en la repetición número 1 con valores de 125.00 mg/kg.

Tabla 14. ADEVA 2da muestra 90 días para concentración de Pb en plantas.

F.V	S.C.	g.l.	C.M.	F	F (5%)	F (1%)
Tratamientos	27273,66	3	9091,22	8,96**	4,76	9,78
Repeticiones	246,91	2	123,46	0,12 ^{NS}	5,14	10,93
Error	6090,53	6	1015,09			
Total	33611,11	11				

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En la segunda evaluación a los 90 días (**véase tabla 14**) para el análisis de concentración de Pb se obtuvo alta significancia estadística para tratamientos, y no significancia estadística para repeticiones, con un coeficiente de variación de 16,15% lo cual da confiabilidad a los resultados obtenidos.

Test: Tukey		Alfa=0,05		
Error: 1015,0652		gl: 6		
Tratamientos	Medias	n	E.E.	
4	259,26	3	18,39	A
2	222,22	3	18,39	A B
3	174,08	3	18,39	A B
1	133,33	3	18,39	B

Figura 50. Prueba de Tukey 2da muestra 90 días para concentración de Pb en plantas.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En la segunda evaluación a los 90 días (**véase figura 50**) para el análisis de concentración de Pb se obtuvo un valor máximo en el tratamiento número 2,3 y 4 los cuales comparten un rango con valores de 222.22; 174.08; 259.26 mg/kg respectivamente y un valor mínimo del tratamiento 1 con 133.33 mg/kg.

Tabla 15. ADEVA 3ra muestra 135 días para concentración de Pb en plantas.

F.V	S.C.	g.l.	C.M.	F	F (5%)	F (1%)
Tratamientos	249825,1	3	83275,0	103**	4,76	9,78
Repeticiones	4465,02	2	2232,51	2,77 ^{NS}	5,14	10,93
Error	4835,39	6	805,90			
Total	259126	11				

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En la tercera evaluación a los 135 días (**véase tabla 15**) para el análisis de concentración de Pb se obtuvo alta significancia estadística para tratamientos, y no significancia estadística para repeticiones, con un coeficiente de variación de 8% lo cual da confiabilidad a los resultados obtenidos.

Test: Tukey		Alfa=0,05			
Error: 8058,8700		gl: 6			
Tratamientos	Medias	n	E.E.		
4	581,48	3	16,39	A	
2	377,78	3	16,39		B
3	233,33	3	16,39		C
1	225,92	3	16,39		C

Figura 51. Prueba de Tukey 3ra muestra 135 días para concentración de Pb en plantas.

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

En la tercera evaluación a los 135 días (**véase figura 51**) para el análisis de concentración de Pb se obtuvo un valor máximo en el tratamiento número 4 con un valores 581.48 mg/kg y un valor mínimo del tratamiento 1 y 3 con 225.925; 233.33 mg/kg respectivamente.

CONCLUSIONES

- ✓ De acuerdo a los resultados obtenidos se ha concluido que las 4 especies tanto forestales como introducidas tienen la capacidad de absorber y tolerar en sus tejidos Pb y Ni en diferente grado de concentración.
- ✓ Durante todo el estudio se ha evidenciado que la especie nativa que presentó mayor capacidad de absorción es la Chilca (*Baccharis latifolia*) con 581.48 mgPb/kg de muestra seca y 437 mgNi/kg de muestra seca.
- ✓ Con relación a la especie introducida la que presentó mayor capacidad de absorción es el Molle (*Schinus areira*) con 377.78 mgPb/kg de muestra seca y 296.30 mgNi/kg de muestra seca.
- ✓ Al realizar el análisis de concentración de Pb y Ni en el suelo del Parque zonal Puertas del Sol del DMQ, se ha obtenido como resultados concentraciones sobre los niveles máximos permisibles.
- ✓ Se determina que el nivel de utilidad de las especies nativas e introducidas para fitorremediación son las cuatro especies, de las cuales la mejor alternativa es la Chilca (*Baccharis latifolia*), seguida por el Molle (*Schinus areira*), en menor medida con el Guarango (*Mimosa quitensis*) y finalmente el Cepillo Rojo (*Callistemon citrinus*).
- ✓ Al realizar la prueba de separación de medias de Tukey al 5% para el análisis de concentraciones de Pb y Ni en las especies forestales nativas e introducidas a los 45, 90 y 134 días, se determina que la capacidad de absorción de la Chilca (*Baccharis latifolia*), y el Molle (*Schinus areira*) comparten un mismo rango, lo cual indica que estas especies pueden ser usados en suelos contaminados.

- ✓ El 97.22% de las plantas sobrevivieron a la contaminación del suelo, lo cual indica que son tolerantes a suelos contaminados con Pb y Ni, mientras que el 2.8% murieron frente a la exposición de los metales.
- ✓ En el estudio se indica que existe una alta correlación lineal positiva entre las variables peso versus la concentración de Pb de las especies Chilca (*Baccharis latifolia*) y Guarango (*Mimosa quitensis*) y con relación al Ni se dio únicamente en la especie Chilca.
- ✓ En la investigación se muestra que existe una alta correlación lineal positiva entre las variables altura versus la concentración de Pb y Ni de la especie Molle (*Schinus areira*).

RECOMENDACIONES

- ✓ Para el proceso de fitorremediación es preferible utilizar especies nativas del lugar, así se contribuye no solo a la descontaminación sino también a la biodiversidad propia de la zona.
- ✓ Se recomienda evaluar en un periodo de tiempo mayor, para observar si el comportamiento de las especies se mantiene al absorber Pb y Ni.
- ✓ Se recomienda repetir la investigación donde se incremente la variable concentración de Pb y Ni en el suelo.
- ✓ Se recomienda repetir la investigación utilizando diferentes especies de las familias utilizadas en este experimento.

LISTA DE REFERENCIAS

1. Adriano, D. (1986). *Trace elements in the terrestrial*. New York: Ed. Springer.
2. Alloway, B. (1995). *Heavy metals in soils*. London: seconds ed, Chapman and Hall.
3. Antonovics, J., Bradshaw, A., & Turner, R. (1971). *Heavy metals tolerance in plants*. Advances in ecological research.
4. Baker, J., & Brooks, R. (1989). *Terrestrial higher plants which hyperaccumulate metallic elements a review of their distribution, ecology and phytochemistry*. Biorecovery.
5. Bautista, F. (1999). *Introducción al estudio de la contaminación del suelo por metales pesados*. Yucatan, Mexico: Ediciones de la Universidad Autónoma de Yucatán.
6. Bech, J. (2002). *Plants from mine spoils in the South American area as potential sources of germplas for phytoremediation technologies*. Acta Biotechnol.
7. Brady, N., & Weil, R. (2002). *The Nature and Properties of soils*. New Jersey: 13th Edition, Prentice Hall.
8. Brown, G., Foster, A., & Ostergren, J. (1999). *Mineral surfaces and Bioavailability of heavy metals: A molecula-scale perspective*. USA: Proc. Natl.

9. Carlson, C., & Adriano, D. (1993). *Environmental impacts of Coal Combustion Residues*. Journal of Environmental Quality.
10. Castillo, M. (2010). *Estudio de impacto ambiental del sector Puertas del Norte / Puertas del Sol*. Quito.
11. Cheng, M., & Hu, C. (2010). *Heavy metals*. Utah: Publised.
12. Comisión de Normalización y acreditación, S. C. (2007). *Metodos de analisis de tejidos vegetales*. Chile.
13. Diez, J. (2008). *Fitocorrección de suelos contaminados con metales pesados: Evaluación de plantas tolerantes y optimización del proceso mediante prácticas agronómicas*. Santiago de Compostella: Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de Edafología y Química agrícola.
14. Doménech, X. (1995). *La Química del suelo. El impacto de los contaminantes*. Madrid, España: Mirahuano.
15. Duran, P. (2010). *Transferencia de metales de suelo a planta en áreas mineras: Ejemplos de los Andes peruanos y de la Cordillera Prelitoral Catalana*. Barcelona: Tesis doctoral.
16. Dushenkov, P., Nanda-Kumar, H., & Raskin, I. (1995). *Rhizofiltration: the use of plants to remove heavy metals from aqueous streams*. Environ Technol.
17. Emsley, J. (2001). *Las piezas de construccion de la naturaleza. Lennotech*.
18. EPA. (1998). *Method 7000B. Flame atomic absorption spectrophotometry*. United States: Environmental Protection Agency.

19. Erick Zagal, A. S. (2007). *Protocolo de métodos de análisis para lodos y suelos*. Chile: Universidad de Concepción, Facultad de agronomía Chillán.
20. García, I., & Dorronsoro, C. (2005). *Contaminación por metales pesados*. España: Departamento de edafología y química agrícola editores.
21. Gong, H., Rose, A., & Suhr, N. (1977). *The geochemistry of cadmium in some sedimentary rocks*. *Geochemica et cosmochemica Acta*, vol 1.
22. Guzmán, M. (2007). *La contaminación de suelos y aguas. Su prevención con nuevas sustancias naturales*. Sevilla: Publidisa.
23. INEN, N. (1982). NTE INEN 0688, Mecánica de suelos, preparación de muestras alteradas para ensayos.
24. ISO-10390. (1994). *Soil quality. Determination of pH*. Geneve: International Organization for Standardization.
25. Kabata-Pendias, A., & Pendias, H. (2000). *Trace elements in soils and plants*. Florida, EEUU: CRC Press, 3rd edition.
26. Kidd, P., Becerra, C., Garcia, L., & Monterroso. (2007). *Aplicación de plantas hiperacumuladoras de níquel en la fitoextracción natural: el género Alyssum L*. Ecosistemas.
27. López, M., & Grau, J. (2005). *Metales pesados: Materia orgánica y otros parámetros de la capa superficial de los suelos agrícolas y de los pastos de la España peninsular*. España: Ministerio de educación y ciencia e Instituto nacional de tecnología agraria y alimentaria.

- 28.** Maqueda, A. (2003). *Fitorremediación de suelos contaminados con metales pesados*. Puebla: Departamento de Química y Biología, Universidad de las Americas.
- 29.** Mas, A., & Azcúe, J. (1993). *Metales en sistemas biológicos*. Barcelona: Promociones y Publicaciones Universitarias.
- 30.** Method, T. (2001). *Organic matter. In the United States Composting Council. Test methods for the Examination of Composting and Compost*. New York, USA.
- 31.** Nedelkoska, T., & Doran, P. (2000). *Characteristics of heavy metal uptake by plant species with potential for phytoremediation and phytomining*. Minerals engineer.
- 32.** Nriagu, J. (1990). *Global metal pollution. Poisoning the biosphere, Environment*.
- 33.** Pilon-Smits, E. (2005). *Phytoremediation*. Rev. Plant. Biol.
- 34.** Porta, C., López, R., & Roquero, L. (1994). *Edafología para la agricultura y el medio ambiente*. España: Mundi-Prensa.
- 35.** Prado, L. (2000). *Contribución a la fenología de las especies forestales nativas andinas de Bolivia y Ecuador*. Ecuador: FOSEFOR.
- 36.** Reeves, R. (2006). *Hyperaccumulation of trace elements by plants. In phytoremediation of metal-contaminated soils*. Ed. Springer.
- 37.** Roca, N. (2004). *Salinidad, alcalinidad y metales pesados en suelos semiáridos de Fray Mamerto Esquiú*. Catamarca, Argentina: Catamarca.

- 38.** Roca-Fernandez, A. (2002). *Contaminación de metales pesados en el suelo*. Galicia: Centro de investigaciones agrarias.
- 39.** Ryan, J., & Chaney, R. (1997). *Issues of risk assessment and its utility in development of soil standards: the 503 methodology an example*. Paris: Prost. R (ed).
- 40.** TULAS. *Libro VI, Anexo 2; Norma de calidad ambiental del recurso suelo, criterios de remediación para suelos contaminados*.
- 41.** Wong, M. (2003). *Ecological restoration of mine degraded soils, with emphasis on metal contaminated soils*. Chemosphere.

ANEXOS

Anexo 1. Registro de concentraciones de Ni y de Pb en la muestra de suelo inicial

Muestra 0 Suelo	Concentración de NI				
	mg/l				aforo 100 ml
	1	2	3	Promedio	mg/Kg
Bloque1/1	2,7	2,5	2,6	2,60	86,67
Bloque1/2	2,6	2,7	2,4	2,57	85,56
Bloque1/3	2,6	2,7	2,6	2,63	87,78
Bloque1/4	2,5	2,6	2,4	2,50	83,33

Muestra 0 Suelo	Concentración de Pb				
	mg/l				aforo 100 ml
	1	2	3	Promedio	mg/Kg
Bloque1/1	3,2	3,1	2,8	3,03	101,11
Bloque1/2	3	2,9	2,8	2,90	96,67
Bloque1/3	3,2	2,9	3,1	3,07	102,22
Bloque1/4	3,1	2,7	3	2,93	97,78


Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Anexo 2. Registro de mortalidad de plantas durante el tiempo de experimentación.

Registro de plantas vivas (✓) muertas (X) mal estado (λ)																				
Fecha	11-ene	18-ene	25-ene	01-feb	08-feb	15-feb	24-feb	01-mar	08-mar	15-mar	22-mar	29-mar	05-abr	10-abr	19-abr	26-abr	03-may	10-may	17-may	25-may
BLOQUE 1																				
UE1																				
T4P1	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
T4P2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
T4P3	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T4P4	✓	✓	✓	✓	✓	λ														
T4P5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T4P6	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	
T4P7	✓	✓	✓	✓	✓	λ														
T4P8	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T4P9	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ	
UE2																				
T1P1	✓	✓	✓	✓	✓	✓														
T1P2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
T1P3	✓	✓	✓	✓	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ							
T1P4	✓	✓	✓	✓	✓	λ														
T1P5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
T1P6	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T1P7	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T1P8	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ	λ	
T1P9	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
UE3																				
T2P1	✓	✓	✓	✓	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	
T2P2	✓	✓	✓	✓	✓	λ														
T2P3	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T2P4	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
T2P5	✓	✓	✓	✓	✓	✓														
T2P6	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T2P7	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T2P8	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ							
T2P9	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
UE4																				
T3P1	✓	✓	✓	✓	x	x														
T3P2	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T3P3	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ							
T3P4	✓	✓	✓	✓	✓	λ														

T3P5	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T3P6	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ						
T3P7	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ	λ	
T3P8	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
T3P9	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
BLOQUE 2																			
UE5																			
T2P10	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T2P11	✓	✓	✓	✓	✓	X													
T2P12	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T2P13	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ	λ	λ	λ	λ						
T2P14	✓	✓	✓	✓	✓	λ													
T2P15	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	
T2P16	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ							
T2P17	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T2P18	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
UE6																			
T3P10	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T3P11	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
T3P12	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T3P13	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓						
T3P14	✓	✓	✓	✓	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	
T3P15	✓	✓	✓	✓	✓														
T3P16	✓	✓	✓	✓	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ							
T3P17	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ
T3P18	✓	✓	✓	✓	✓														
UE7																			
T4P10	✓	✓	✓	✓	✓	λ													
T4P11	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T4P12	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	λ	
T4P13	✓	✓	✓	✓	✓	λ													
T4P14	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T4P15	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ	
T4P16	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
T4P17	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
T4P18	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
UE8																			
T1P10	✓	✓	✓	✓	✓														
T1P11	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓							
T1P12	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T1P13	✓	✓	✓	✓	✓	λ													
T1P14	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	λ	λ	λ	λ	λ							
T1P15	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	
T1P16	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T1P17	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓
T1P18	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	✓	

BLOQUE 3

 = Toma de muestras

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Anexo 3. Registro de pesos de plantas durante el tiempo de experimentación.

	Peso seco (g)		
Muestra 1	Planta 1	Planta 2	Promedio
Bloque1/T4	23,3	26,7	25
Bloque1/T1	9,1	8,6	8,85
Bloque1/T2	12,2	11,9	12,05
Bloque1/T3	14,5	15,2	14,85

	Peso seco (g)		
Muestra 2	Planta 1	Planta 2	Promedio
Bloque1/T4	27,1	28,4	27,75
Bloque1/T1	13,6	14,5	14,05
Bloque1/T2	18,2	18,9	18,55
Bloque1/T3	19,5	20,6	20,05

	Peso seco (g)		
Muestra 3	Planta 1	Planta 2	Promedio
Bloque1/T4	35,5	36,3	35,9
Bloque1/T1	18,9	17,5	18,2
Bloque1/T2	22,4	21,5	21,95
Bloque1/T3	24,7	25,7	25,2

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Anexo 4. Registro de alturas de plantas durante el tiempo de experimentación.

Registro de medida de plantas (cm) DE LA BASE A LA PUNTA																				
Fecha	11-ene	18-ene	25-ene	01-feb	08-feb	15-feb	24-feb	01-mar	08-mar	15-mar	22-mar	29-mar	05-abr	10-abr	19-abr	26-abr	03-may	10-may	17-may	25-may
BLOQUE 1																				
UE1																				
T4P1	33,7	34,3	34,7	35,2	35,7	36,1	37	37,3	37,5	37,8	38,3	39,1	39,6	39,8						
T4P2	32,9	33,9	34,5	35	35,3	35,7	36,2	36,9	37,2	37,5	38,3	38,6	39,1	39,3						
T4P3	33,2	33,5	33,9	34,8	35,4	35,8	36,3	36,6	36,8	37,1	37,5	38,5	39	39,5	40,5	41,5	42,3	42,6	43,3	43,8
T4P4	32,7	33,3	34,4	34,9	35,7	36,1	37													
T4P5	32,5	32,8	33,4	33,9	34,2	34,6	35,4	35,7	36	37	37,2	38,2	38,7	39	39,1	39,7	40,2	40,5	41	41,4
T4P6	32,3	32,6	33	33,5	34,5	34,9	35,4	35,7	36,5	36,8	37,2	37,5	38	38,5	38,7	39,7	40,5	40,8	41,5	42
T4P7	32	32,6	33,6	34,1	34,6	35	36													
T4P8	31,8	32,1	32,7	33,2	33,5	34,2	34,7	35	36	36,3	36,5	36,8	37,3	37,5	37,7	38,3	38,8	39,5	40,4	40,9
T4P9	31,5	32,1	32,8	33,3	33,9	34,3	34,8	35,8	36,5	37,5	37,9	38,2	38,7	39,2	39,4	39,6	40,4	40,7	41,4	41,9
OMEDIO							35,9							39						42
UE2																				
T1P1	35,6	36	36,4	36,9	37,6	38	38,5													
T1P2	36	36,4	36,9	37,3	37,9	38,6	39	39,5	39,9	40,2	40,8	41,5	41,9	42,6						
T1P3	35,4	35,9	36,3	36,8	37,6	38	38,5	38,8	39,3	39,9	40,4	40,9	41	41,8						
T1P4	36,1	36,7	37,5	38,2	38,9	39,4	39,7													
T1P5	37,7	38	38,4	38,7	39	39,2	39,6	40	40,5	40,8	41	41,5	42	42,6	42,9	43,6	44	44,5	45	46
T1P6	38,4	38,9	39,3	39,8	40,8	41,2	41,5	41,7	42,1	42,3	42,8	43,3	43,6	44,1	44,2	44,4	44,8	45,4	45,8	45,9
T1P7	37,6	38,1	38,4	38,9	39,2	39,8	40,1	40,6	41,1	41,3	41,8	42	42,3	42,8	43,2	43,6	44	44,4	45	45,1
T1P8	36,8	37,1	37,3	37,8	38,8	39,1	39,3	39,8	40,2	40,5	41,3	41,6	41,9	42,2	42,7	42,8	43,2	43,6	44	44,5
T1P9	35,8	36,3	36,7	37,2	37,4	37,8	38,1	38,3	38,7	38,9	39,4	40,1	40,4	40,9	41,9	42,1	42,5	43,1	43,5	43,6
OMEDIO							39,4							42,4						45
UE3																				
T2P1	28,7	29	29,2	29,7	30,2	30,5	30,7	31,2	31,6	31,9	32,8	33,1	33,4	33,7	34,2	34,9	35,3	35,5	35,9	36,4
T2P2	28	28,5	29,4	30,2	30,7	31	31,5													
T2P3	30,3	30,8	31,1	31,6	31,9	32,5	32,8	33,3	33,8	34	34,5	34,7	35	35,5	35,9	36,3	36,7	37,1	37,7	37,8
T2P4	31,2	31,5	31,7	32,2	32,3	32,6	32,8	33,3	33,7	34	34,1	34,4	34,7	35	35,5	35,6	36	36,2	36,6	37,1
T2P5	29,2	29,7	30,5	31	31,5	31,9	32,5													
T2P6	30,3	30,8	31,1	31,6	31,9	32,5	32,8	33,3	33,8	34	34,5	34,7	35	35,5	35,9	36,3	36,7	37,6	38,2	38,3
T2P7	28,6	28,9	29,1	29,6	30,5	30,8	31,6	32,1	32,5	32,8	33,8	34,1	34,4	34,7	35,2	35,7	36,1	36,9	37,3	37,8
T2P8	27,9	28,4	28,8	29,3	30	30,4	31	31,7	32,1	32,3	32,8	33,8	34,1	34,6						
T2P9	30	30,5	30,8	31,3	31,6	32,2	32,5	33	33,5	34,5	35	35,2	35,5	36						
OMEDIO							32							35						37,5
UE4																				
T3P1	25,6	26,1	26,5	27	27,2	27,2	27,2													
T3P2	24,9	25,4	25,7	26,2	26,5	27,1	27,4	27,9	28,4	28,6	29,1	29,3	29,6	30,1	30,5	30,9	31,3	31,7	32,3	32,4
T3P3	24,2	24,5	24,7	24,9	25	25,3	25,7	26,2	26,6	26,9	27	27,3	27,6	27,9						
T3P4	25,9	26,4	26,8	27,8	28,5	29,3	30,3													
T3P5	24,4	24,9	25,2	25,7	26	26,6	26,9	27,4	27,9	28,1	28,6	28,8	29,1	29,6	30	30,4	30,8	31,2	31,8	31,9
T3P6	24,5	24,8	25	25,5	25,6	25,9	26,1	26,6	27,2	27,9	28	28,3	28,8	29,1						
T3P7	23,9	24,4	24,8	25,3	25,5	25,9	26,2	26,4	26,8	27	27,5	27,7	28	28,5	28,6	28,8	29,2	29,8	30,2	30,3
T3P8	25,4	25,9	26,2	26,7	27	27,6	27,9	28,4	28,9	29,1	29,6	29,8	30,1	30,6	31	31,4	31,8	32,2	32,8	32,9
T3P9	25,2	25,5	25,7	26,2	26,3	26,6	26,8	27,3	27,7	28	28,1	28,4	28,7	29	29,5	29,6	30	30,2	30,6	31,1
OMEDIO							27,2							29,3						31,7

BLOQUE 2																				
UE5																				
T2P10	28,3	28,6	28,8	29,6	30,5	31	31,9	32,3	32,5	33	33,2	33,5	34,3	34,4	34,7	35,2	36,1	36,5	37,1	37,3
T2P11	27,5	28,4	29,3	29,7	30,6	30,6	30,6													
T2P12	30,4	30,9	31,2	31,3	31,5	31,8	31,9	32,1	33	33,9	34,3	35,2	35,4	36,3	36,5	36,7	37,6	38,5	39,3	39,7
T2P13	29,3	29,6	30,4	30,5	31,4	31,6	32,4	32,8	33,7	33,8	34,1	35	35,2	35,4						
T2P14	27,3	27,5	27,8	28,1	28,5	28,7	29													
T2P15	29,3	30,2	30,5	31,4	32,2	33	33,1	33,4	33,8	34,2	34,5	34,7	35,1	35,4	35,5	35,7	36	36,3	36,7	37
T2P16	30	30,5	30,7	31	31,1	32	32,2	33,1	33,4	34,3	34,8	35,7	36	36,5						
T2P17	27,5	27,9	28,2	28,3	28,6	28,8	28,9	31,9	32,4	32,6	32,7	33	33,4	34,3	34,8	35,7	35,9	36	36,9	37,3
T2P18	29,4	29,7	30,6	31,5	32,3	32,5	33,4	33,8	34,7	35,6	36,5	36,8	36,9	37,4	37,7	37,8	38	38,1	39	39,2
OMEDIO							31,5							35,7						38,1
UE6																				
T3P10	25,5	26	26,5	27,4	27,9	28,5	29	29,9	30,2	30,6	31,5	31,8	32,3	32,6	33,5	33,9	34,4	34,5	34,7	35
T3P11	24,1	24,7	25,6	26	26,9	27,3	27,8	28,7	29,3	29,4	30,3	30,9	31,2	31,5	31,9	32,4	32,9	33,2	33,8	34,1
T3P12	26,5	26,7	27,3	27,6	28	28,5	29	29,9	30,4	31,3	31,5	32,4	32,5	32,7	33,6	33,9	34,4	34,6	35,5	35,8
T3P13	25,8	26,2	26,5	26,9	27,2	28,1	28,2	29,1	29,4	30,3	30,6	30,8	31,7	32,1						
T3P14	24,7	25,6	25,8	26,7	26,9	27,2	28,1	28,3	28,6	29,5	29,9	30,2	31,1	31,4	31,5	32,4	32,6	33,5	33,7	34
T3P15	24,9	25,2	25,4	26,3	26,5	26,7	27,6													
T3P16	25	25,9	26,8	27,2	27,6	28,5	28,7	29,2	30,1	30,4	30,8	31	31,9	32,4						
T3P17	26,3	27,2	27,4	28,3	28,4	29,3	29,5	30,4	30,8	31,3	32,2	32,4	33,3	33,8	34,1	34,3	35,2	35,4	36,3	36,5
T3P18	26	26,9	27,2	28,1	29	29,5	30,3													
OMEDIO							28,7							32,4						35,1
UE7																				
T4P10	31,7	32,5	33,4	33,9	34,4	35,3	35,8													
T4P11	32,7	33,1	34	34,9	35,9	36,8	37,8	38,7	39,1	39,4	39,9	40,8	41,4	42,3	42,7	42,9	43,7	44,6	44,8	45
T4P12	33,5	33,7	34,1	35	36	36,9	37,8	38	39	39,9	40,1	41	41,2	42,1	42,3	42,7	43,6	44	44,9	45,7
T4P13	32	32,9	33,8	34,7	35,2	35,4	36,3													
T4P14	33	33,8	34,8	35,7	36	36,9	37,1	38	38,3	39,2	39,7	40,6	41,6	41,8	42,7	43,6	43,8	44	44,9	45,1
T4P15	34,7	34,9	35,9	36,2	36,6	36,9	37,8	38	38,1	39	39,3	40,2	40,3	41,2	41,4	42,3	42,6	43,5	44,4	44,6
T4P16	33	33,9	34,8	35,2	36,1	36,3	37,2	37,4	38,3	38,7	39,6	40,2	41,1	41,4						
T4P17	34,2	35,2	35,6	36,5	36,9	37,8	38,1	39	39,3	40,2	41	41,9	42,1	42,4						
T4P18	34	34,3	34,8	35,3	36,2	36,5	37,4	38,3	38,5	39,4	40,3	40,5	40,7	41	42	42,9	43,3	43,7	44,6	45,1
OMEDIO							37,3							41,7						45,1
UE8																				
T1P10	35,7	35,9	36,2	36,3	37,2	38,1	38,3													
T1P11	36,3	37,2	37,4	38,3	39,2	39,5	39,7	40,6	41	41,9	42,2	42,6	43	43,2						
T1P12	37,6	37,8	38,7	39	39,9	40,2	40,4	41,3	41,5	41,8	42,3	43,2	43,4	43,6	43,9	44,1	44,4	45,3	46,2	46,7
T1P13	35,4	35,8	36,1	36,5	37,4	37,6	37,7													
T1P14	37,5	37,7	38,6	39	39,9	40,3	41,2	41,6	41,9	42,8	43,2	43,5	43,7	44						
T1P15	38,7	38,8	39,6	39,8	40,7	41,1	42	42,4	43,3	43,6	43,8	44,7	45	45,2	45,4	46,3	46,5	46,7	47,6	48
T1P16	39	39,9	40,8	40,9	41,8	42,1	42,3	42,5	42,8	43,7	44	44,4	44,6	45,5	45,9	46,8	47,7	47,9	48,3	48,6
T1P17	37,7	38,1	38,3	38,6	38,8	39,7	40,1	41	41,3	41,5	42,4	42,9	43,3	44,2	44,6	45,5	45,9	46,1	47	47,4
T1P18	38,6	39,5	40,3	41,2	41,5	41,9	42,8	43	43,3	43,5	44,4	44,7	45	45,2	46,1	46,4	46,8	47,7	47,9	48,9
OMEDIO							40,5							44,4						47,9

BLOQUE 3																			
UE9																			
T1P19	35,8	36,2	36,5	36,7	37,3	38,1	38,7												
T1P20	37,8	38,4	39	39,4	39,6	39,8	40,3	40,6	41	41,3	42	42,5	42,9	43,2	43,6	44,2	44,6	44,8	45,4
T1P21	38,9	39,5	39,8	40	40,1	40,5	40,7	41,2	41,9	42,5	43	43,4	43,7	43,8					
T1P22	39	39,7	40	40,5	41,2	42	42,5												
T1P23	38,5	39,1	39,7	40,1	40,3	40,5	41	41,3	41,7	42	42,7	43,2	43,6	43,9	44,3	44,9	45,3	45,5	46,1
T1P24	36,3	36,9	37,9	38,7	39,3	39,7	39,9	40,4	41,1	41,7	42,2	42,6	42,9	43					
T1P25	37,2	37,6	37,9	38,7	39,3	40,1	40,7	40,9	41,9	42,9	43,7	44,2	44,6	44,8	45,4	45,8	46,5	47,2	48,2
T1P26	35	35,6	36,2	36,6	37,1	37,9	38,4	39,4	39,8	40,6	41,3	41,8	42,2	42,5	42,9	43,5	44,3	45	45,6
T1P27	35,8	36,4	36,7	37,7	38,7	39,1	39,8	40,3	41	41,6	42,1	42,5	42,8	43,8	44,3	44,6	45,6	46,3	46,7
OMEDIO							40,2							43,6					46,9
UE10																			
T4P19	31,6	32,2	32,8	33,2	34,2	34,4	34,9	35,2	35,6	35,9	36,6	37,1	37,5	38,5	38,9	39,5	39,9	40,1	40,7
T4P20	32,7	33,3	34,3	34,5	34,6	35	35,2	35,7	36,4	37	37,5	37,9	38,2	38,3	38,8	39,8	40	40,3	40,7
T4P21	33,7	34,1	34,4	34,6	35,2	36	36,6	36,8	37,1	37,6	38,1	38,6	39	39,2	39,5	40,5	40,7	41	41,4
T4P22	34	34,6	35,2	35,6	35,8	36	36,5	36,8	37,2	37,5	38,2	38,7	39,1	39,4	39,8	40,4	40,8	41	41,6
T4P23	34,9	35,6	35,9	36,9	37,6	38	38,2												
T4P24	33,8	34,2	34,5	34,7	35,3	36,1	36,7	37,1	37,4	37,9	38,7	39,2	39,7	39,9					
T4P25	33,5	34,1	34,5	34,9	35,9	36,1	36,6	36,9	37,3	37,6	38,3	38,8	39,2	39,5	39,9	40,5	40,9	41,1	41,7
T4P26	34,6	35,2	35,5	36,5	36,6	37,4	37,6												
T4P27	32,6	33	33,3	33,5	34,1	34,9	35,5	35,7	36	36,5	37,3	37,8	38,2	39					
OMEDIO							36,4							39,1					41,6
UE11																			
T3P19	24	24,6	24,9	25,3	26,1	26,5	26,7	27,2	27,9	28,5	29	29,4	29,7	30,5	31	31,5	32,5	32,8	33,2
T3P20	24,3	24,7	25	25,8	26,4	27,2	27,8												
T3P21	24,8	25,4	26	26,4	26,6	26,8	27,3	27,6	28	28,3	29	29,5	29,9	30,2	30,6	31,2	31,6	31,8	32,4
T3P22	25,4	26	26,3	26,5	26,6	27	27,7	28,5	29,2	29,8	30,3	30,7	31	32	32,5	32,8	33,6	33,9	34,3
T3P23	24	24,4	24,7	25,1	25,7	26,5	26,9												
T3P24	26,4	27	27,6	28	28,2	28,4	28,9	29,2	29,6	29,9	30,6	31,1	31,5	31,8	32,2	32,8	33,2	33,9	34,5
T3P25	25,7	26,3	26,6	26,8	27,8	28,2	28,4	28,9	29,6	30,2	30,7	31,1	31,4	32,2	32,7	33	33,5	33,8	34,2
T3P26	24,6	25	25,3	25,5	26,1	26,9	27,5	27,7	28	28,5	29,3	29,8	30,2	30,7					
T3P27	25	25,6	26,2	26,6	26,8	27	27,5	27,8	28,2	28,5	29,2	29,7	30,1	30,5					
OMEDIO							27,6							31,1					34
UE12																			
T2P19	28,4	28,8	29,1	29,3	29,9	30,7	31,3	31,5	31,8	32,3	33,1	33,6	34	34,2	34,8	35,2	35,9	36,6	37
T2P20	27,5	27,8	28,4	28,8	29	29,2	30												
T2P21	28	28,6	28,9	29,4	30,4	30,8	31,7	32,2	32,9	33,5	34	34,4	34,7	34,8	35,3	35,6	35,8	36,1	36,5
T2P22	28,9	29,3	29,6	30,3	30,9	31,7	32,3	33,1	33,6	34,1	34,9	35,4	35,8	36	36,6	37	37,7	38,4	38,8
T2P23	27,3	27,5	28	28,4	28,6	29,2	29												
T2P24	27	27,6	27,9	28,1	28,8	29,2	29,7	30,2	30,9	31,5	32	32,4	32,9	33,4					
T2P25	29,4	29,8	30,1	30,3	30,9	31,7	32,3	32,5	32,8	33,3	34,1	34,6	35	35,2	35,8	36,2	36,9	37,6	38
T2P26	29	29,6	30,2	30,6	M	U	E		R		T		A						
T2P27	28,1	28,7	29	29,2	29,3	29,7	29,9	30,4	31,1	31,7	32,2	32,6	32,9	33					
OMEDIO							30,8							34,4					37,8

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Anexo 5. Digestor microondas marca BERGHOF modelo MWS-2

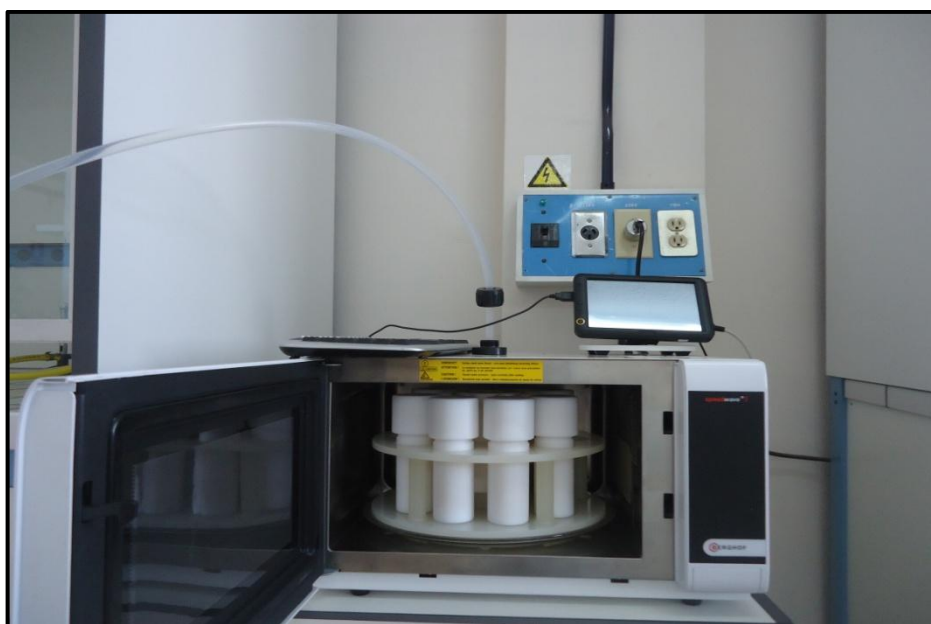


Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Application Report

M W S – 2 / Environment

MICROWAVE DIGESTION OF SOIL

Summary Extraction of soil with aqua regia using a Berghof microwave digestion system.

Equipment	Type	Manufacturer
	MWS-2	Berghof Products + Instruments, Germany
	DAP-60K	Berghof Products + Instruments, Germany

Reagents HNO₃ 65%
HCl 37%

Procedure Weigh 3,5 to 4,0 g of the sample into the digestion vessel. The amount of organic material should not exceed 250 mg. Add 10 ml of aqua regia (HNO₃:HCl = 1:3) and shake the mixture carefully or stir with a clean teflon or a glass bar. Wait at least 2 min before the vessel is closed. Heat in the microwave oven with the following program.

Temperature Program	Step	1	2	3	4
	T [°C]	180	100		
	Power* [%]	99	99		
	Time [min]	25	10		

Wait until the vessels have cooled to room temperature. Carefully open the digestion vessel in a fume hood wearing hand, eye and body protection.

Results

Notes: This application serves only as a guide line and may need to be optimised for your sample.

*This application is outlined for 10 samples. Increase or decrease the power by 10% per sample, when using more or less samples. Minimum power is 40% independent of the sample number.

Berghof Products + Instruments GmbH
Laboratory Technology

Harretstr. 1 • 72800 Eningen • Germany
Tel.: +49 7121 894-0 • Fax: +49 7121 894-300
<http://www.berghof-instruments.de>

Contact:
E-Mail: info@berghof-instruments.de



Anexo 7. Método de BERGHOF para determinación de metales pesados en plantas.

Application Report

M W S – 2 / Food, Pharma, Cosmetics

MICROWAVE DIGESTION OF DRIED PLANTS

Summary Dried plants are digested in a acid solution using a Berghof microwave digestion system

Equipment	Type	Manufacturer
	MWS-2	Berghof Products + Instruments, Germany
	DAP-60K	Berghof Products + Instruments, Germany

Reagents HNO₃ 65%

Procedure Weigh 300 mg of the sample into the digestion vessel and add 5 ml of nitric acid. Shake the mixture carefully or stir with a clean teflon or glass bar. Wait at least 20 min. before the vessel is closed. Heat in the microwave oven with the following program.

Temperature Program	Step	1	2	3	4
	T [°C]	145	190	100	
	Power* [%]	75	90	40	
	Time [min]	5	10	10	

To avoid foaming and splashing wait until the vessels have cooled to room temperature (about 20 min). Carefully open the digestion vessel in a fume hood wearing hand, eye and body protection since a large amount of gas will be produced during the digestion process.

Results Clear solution

Notes: This application serves only as a guide line and may need to be optimised for your sample.

*This application is outlined for 10 samples. Increase or decrease the power by 10% per sample, when using more or less samples. Minimum power is 40% independent of the sample number.

Berghof Products + Instruments GmbH
Laboratory Technology

Hametstr. 1 • 72800 Eningen • Germany
Tel.: +49 7121 894-0 • Fax: +49 7121 894-300
<http://www.berghof-instruments.de>

Contact:
E-Mail: info@berghof-instruments.de



Anexo 8. Espectrofotómetro de absorción atómica marca VARIAN



Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Anexo 9. Concentraciones de Pb y Ni en plantas, medidas en el espectrofotómetro.

Concentracion de Ni						Concentracion de Pb					
1ra Muestra Planta 45 días	mg/l				aforo 100 ml	1ra Muestra Planta 45 días	mg/l				aforo 100 ml
	1	2	3	Promedio	mg/Kg		1	2	3	Promedio	mg/Kg
Bloque1/T4	0,4	0,3	0,4	0,37	122,22	Bloque1/T4	0,6	0,5	0,6	0,57	188,89
Bloque1/T1	0,1	0,2	0,2	0,17	55,56	Bloque1/T1	0,1	0,2	0,3	0,20	66,67
Bloque1/T2	0,2	0,4	0,3	0,30	100,00	Bloque1/T2	0,4	0,5	0,3	0,40	133,33
Bloque1/T3	0,1	0,4	0,2	0,23	77,78	Bloque1/T3	0,3	0,4	0,3	0,33	111,11

Concentracion de Ni						Concentracion de Pb					
2da Muestra Planta 90 días	mg/l				aforo 100 ml	2da Muestra Planta 90 días	mg/l				aforo 100 ml
	1	2	3	Promedio	mg/Kg		1	2	3	Promedio	mg/Kg
Bloque1/T4	0,7	0,6	0,6	0,63	211,11	Bloque1/T4	0,9	0,8	0,8	0,83	277,78
Bloque1/T1	0,2	0,3	0,1	0,20	66,67	Bloque1/T1	0,4	0,5	0,3	0,40	133,33
Bloque1/T2	0,3	0,3	0,4	0,33	111,11	Bloque1/T2	0,4	0,5	0,6	0,50	166,67
Bloque1/T3	0,4	0,3	0,4	0,37	122,22	Bloque1/T3	0,6	0,5	0,6	0,57	188,89

Concentracion de Ni						Concentracion de Pb					
3ra Muestra Planta 135 días	mg/l				aforo 100 ml	3ra Muestra Planta 135 días	mg/l				aforo 100 ml
	1	2	3	Promedio	mg/Kg		1	2	3	Promedio	mg/Kg
Bloque1/T4	1,3	1,4	1,4	1,37	455,56	Bloque1/T4	1,5	1,8	1,8	1,70	566,67
Bloque1/T1	0,4	0,5	0,6	0,50	166,67	Bloque1/T1	0,5	0,6	0,7	0,60	200,00
Bloque1/T2	0,6	0,9	1	0,83	277,78	Bloque1/T2	0,8	0,9	1,1	0,93	311,11
Bloque1/T3	0,7	0,6	0,7	0,67	222,22	Bloque1/T3	0,8	0,6	0,7	0,70	233,33

Elaborado por: Mishelle Almeida y Gabriela Lima

Anexo 10. Especies vegetales a los 45,90 y 135 días



Imagen: Mishelle Almeida y Gabriela Lima